



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

THAMARA FERREIRA DA ROCHA

CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE ABELHAS *Apis mellifera* L. NOS BIOMAS CAATINGA E MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DA PARAÍBA

AREIA

2022

THAMARA FERREIRA DA ROCHA

CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE ABELHAS *Apis mellifera* L. NOS BIOMAS CAATINGA E MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DA PARAÍBA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

Área de concentração: Produção de não- ruminantes

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira/ UFPB
Prof. Dr. Débora Coelho Moura / UFCG
Prof. Dr. Dermeval de Araújo Furtado /UFCG

AREIA

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

R672c Rocha, Thamara Ferreira da.

Caracterização do microbioma intestinal de abelhas
Apis mellifera L. nos biomas caatinga e mata atlântica
do estado da Paraíba / Thamara Ferreira da Rocha. -
Areia:UFPB/CCA, 2022.

41 f.

Orientação: Celso José Bruno de Oliveira.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Biologia. 3. Apicultura. 4.
Metagenômica. 5. Bioinformática. I. Oliveira, Celso
José Bruno de. II. Título.

UFPB/BS/CCA

CDU 636(043.3)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE ABELHAS *Apis mellifera* L. NOS BIOMAS CAATINGA E MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DA PARAÍBA”

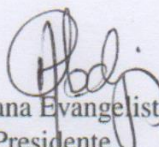
AUTORA: Thamara Ferreira da Rocha

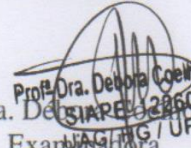
ORIENTADOR: Celso José Bruno de Oliveira

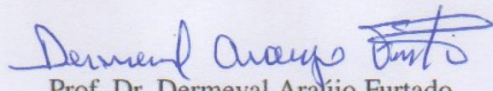
JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:


Prof. Dra. Adriana Evangelista Rodrigues
Presidente
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dra. Debora Coelho Moura
Examinadora
Universidade Federal de Campina Grande


Prof. Dr. Dermeval Araújo Furtado
Examinador
Universidade Federal de Campina Grande

Areia, 25 de fevereiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho;

A Universidade Federal da Paraíba que foi essencial no meu processo de formação profissional, pela dedicação, e por tudo o que aprendi ao longo dos anos do curso;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro prestado, sem este o desenvolvimento do estudo não seria possível;

Ao professor Celso José Bruno de Oliveira, por ter sido meu orientador. A professora Adriana Evangelista, por ter sido minha coorientadora, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiou o meu aprendizado;

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho. Em especial a minha grande amiga Gabriela Torres, por todo apoio, amizade, força e confiança. Aos meus amigos de laboratório, Eudes, Kilmer, Pryscila e Amanda, por toda ajuda e momentos de descontração compartilhados;

As minhas amigas Raemma Naara e Emília, pela amizade e por todo suporte dado;

A meu pai José Nildo Medeiros da Rocha (in memoriam), que onde quer que esteja, nunca deixou de me amar, nem de confiar em mim. Pai a você o meu amor eterno.

A todos vocês o meu Muito Obrigada!!!

CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE ABELHAS *Apis mellifera* L. NOS BIOMAS CAATINGA E MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DA PARAÍBA

RESUMO

A composição da microbiota intestinal dos animais pode ser alterada por diversos fatores intrínsecos e extrínsecos ao hospedeiro como dieta, estado fisiológico e genética. O presente estudo objetivou caracterizar as diferenças existentes na microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* oriundas de dois biomas, Mata Atlântica e Caatinga, através de metataxonomia. Foi realizado sequenciamento de alto desempenho da região V3-V4 do gene microbiano rRNA 16S e em sequência o processamento dos dados. Observou-se maior abundância diferencial do gênero *Apibacter* oriundas da Mata Atlântica. Estudos desmonstraram que as abelhas expostas a diferentes tipos de paisagem apresentam diferenças significativas em suas comunidades microbianas intestinais, embora a variância demonstrada pelo tipo paisagístico seja relativamente baixa.

Palavras-chaves: apicultura; metagenômica; bioinformática; biologia molecular; microbiologia.

CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE ABELHAS *Apis mellifera* L. NOS BIOMAS CAATINGA E MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DA PARAÍBA

ABSTRACT

in general, several intrinsic alter the composition of the intestinal microbiota and extrinsic factors of the host such as diet, physiological state and genetic history. The present study aimed to characterize the differences in the intestinal microbiota of *Apis mellifera* bees from two biomes (Atlantic Forest and Caatinga) through the use of genomic tools. For the characterization of the microbiota, sequencing of the V3-V4 region of the microbial 16S rRNA gene was performed and data processing was sequential. In the results, it is observed that for seven genera, there is an abundance in both regions, but for the genus *Apibacter*, there is the presence of this in lower abundance in the samples of the Caatinga hives. Studies have dismantled that bees exposed to different landscape types present significant differences in their intestinal microbial communities, although the variance shown by the landscape type is relatively low.

Keywords: apiculture; metagenomics; bioinformatics; molecular biology; microbiology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Riqueza da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* dos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Shannon..... 25
- Figura 2:** Abundância relativa de oito principais gêneros bacterianos da microbiota intestinal de abelhas africanizadas. 26
- Figura 3:** Diversidade alfa da microbiota de abelhas *Apis mellifera* dos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade filogenética de Faith. 27
- Figura 4:** Diversidade beta da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Bray-curtis..... 27
- Figura 5:** Diversidade beta da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Jaccard..... 28
- Figura 6:** Análise de componentes principais (PCoA) da diversidade beta de comunidades bacterianas intestinais de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com a métrica filogenética Unifrac ponderada. 29
- Figura 7:** Análise de componentes principais (PCoA) da diversidade beta de comunidades bacterianas intestinais de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com a métrica filogenética Unifrac ponderada. 29
- Figura 8:** Composição taxonômica da microbiota intestinal de abelhas nos biomas Caatinga (amostras apis SJC_S12, SJC_S24, SJC_S36, SJC_S48, SJC_S92), SJC_S1212XXXXXX) e Mata Atlântica (apis setor_S1, apis setor_S13, apis setor_S25, apis setor_S37, apis setor_S49)..... 31
- Figura 9:** Mapa de calor da abundância de taxa bacterianos da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* dos biomas Caatinga e Mata Atlântica..... 32

SUMÁRIO

1. Introdução.....	10
2. Revisão de literatura.....	13
2.1 Caatinga	13
2.2 Mata Atlântica.....	14
2.3 Flora apícola	14
2.4 A flora apícola na Paraíba.....	15
2.5 Flora apícola no Cariri paraibano	16
2.6 Microbioma das abelhas	17
2.7 Identificação taxonômica da microbiota	18
2.8 Relação da nutrição com a microbiota intestinal das abelhas.....	19
3. Material e métodos	22
3.1 Projeto experimental	22
3.2 Preparação das amostras e extração de DNA	22
3.3 Preparação das bibliotecas e sequenciamento	23
3.4 Processamento de dados de sequenciamento e estatísticas.....	24
4. Resultado e discussão.....	25
4.1 Composição taxonômica.....	25
4.2 Diversidade Alfa	25
4.3 Diversidade beta	27
5. Conclusão	33
6. Referências Bibliográficas	34

1. Introdução

As abelhas desenvolvem inúmeras funções na natureza, todas elas relacionadas a diversos fatores que por sua vez são de extrema importância para o funcionamento do nosso planeta. Podem-se obter diversos serviços e produtos através destes insetos como, por exemplo, a polinização e, conseqüentemente, o aumento na produção agrícola. Adicionalmente, são produzidos derivados da apicultura tais como o mel, a própolis, a cera, a geleia real e a apitoxina (COSTA-MAIA et al., 2010). Em meio aos benefícios que as abelhas oferecem, considera-se o mais importante o papel de como polinizadoras.

Nos últimos anos, vários estudos envolvendo cultivo microbiológico convencional e sequenciamento de DNA demonstraram que abelhas operárias e adultas do gênero *Apis* apresentam microbiota intestinal característica e inerentemente estável, composta por um número limitado de linhagens bacterianas desempenhando importante papel na digestão, no ganho de peso, na resistência a patógenos e no desenvolvimento intestinal (MARTINSON et al., 2011; ENGEL et al. 2012; SABREE, 2012; LEE, 2015). (

Tem havido aumento no número de estudos que demonstraram ligação entre o microbioma intestinal e a saúde das abelhas. No intestino da abelha ocorre a colonização através de oito filotipos bacterianos centrais, sendo eles: *Snodgrassella alvi*, *Gilliamella apicola*, *Lactobacillus* spp, *Bifidobacterium* spp, *Frischella perrara*, *Bartonella apis*, *Parasaccharibacter apium* e *Commensalibacter* spp (KWONG et al., 2017). A microbiota das abelhas é semelhante à de outros insetos, contribuindo para a digestão dos alimentos pelo hospedeiro, promovendo o ganho de peso através do metabolismo bacteriano e da sinalização hormonal, e desempenhando função protetora contra a infecções por patógenos, bem como na regulação do sistema imunológico do hospedeiro (KWONG e MORAN, 2016; RAYMANN e MORAN, 2018).

O microbioma intestinal de abelhas é altamente conservado e especializado, consistindo de nove espécies bacterianas que são adquiridas, principalmente, pelo contato entre os indivíduos. Cinco dessas espécies estão presentes, tanto nos Apíneos como nos Bombíneos. Distúrbios na microbioma intestinal demonstraram ter efeitos prejudiciais na saúde das abelhas (RAYMANN, 2018).

Estudos recentes demonstraram que antibióticos podem levar à disbiose intestinal em abelhas, tornando-as mais propensas a infecções mortais (LI et al., 2017; RAYMANN et al., 2017).

Kesnerova et al. (2017), estudando mudanças metabólicas em abelhas com microbiota completa produzida a partir de cultura *in vitro*, identificaram que a microbiota intestinal utiliza uma ampla gama de substratos derivados do pólen, incluindo flavonóides e componentes da parede externa do pólen, sugerindo um papel fundamental para a degradação de metabólitos vegetais secundários e digestão do pólen. Por sua vez, várias espécies foram responsáveis pelo acúmulo de ácidos orgânicos e intermediários de degradação de compostos aromáticos.

Animais que vivem em comunidades sociais normalmente abrigam uma microbiota intestinal característica importante para a nutrição e defesa de patógenos. Engel et al. (2012) identificaram uma comunidade microbiana distinta no intestino da abelha *Apis mellifera*, composta por um conjunto taxonomicamente restrito de espécies específicas de abelhas sociais. Os autores afirmam que apesar da importância ecológica e econômica das abelhas melíferas e da crescente preocupação com o declínio populacional, o papel de seus simbiossitos intestinais para a saúde e nutrição da colônia é pouco conhecido. Estudos recentes envolvendo metagenômica tem demonstrado que o microbioma intestinal de abelhas apresenta um grau notável de diversidade genética. Porém, trata-se de um tema pouco conhecido, principalmente quando se considera o bioma no qual as abelhas estão inseridas.

O Estado da Paraíba é formado por várias regiões distintas, incluindo áreas de Mata Atlântica e Caatinga. O interesse em investigar estas duas regiões vem da diferença edafoclimática e de vegetação significativas entre as mesmas. De acordo com o Instituto Brasileiro de Florestas, a Mata Atlântica ocupava uma área de 1.110.182 Km², e correspondia a 15% do território nacional, mas hoje restam apenas 12,5% da floresta que existia originalmente. É constituída principalmente por mata ao longo da costa litorânea que vai do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul. Apresenta uma variedade de formações, engloba um diversificado conjunto de ecossistemas florestais com estrutura e composições florísticas bastante diferenciadas, acompanhando as características climáticas da região onde ocorre. Cerca de 70% da população brasileira vive no território da Mata Atlântica; as nascentes e mananciais abastecem as cidades, sendo um dos fatores que tem contribuído com os problemas de crise hídrica, associados à escassez, ao desperdício, à má utilização da água, ao desmatamento e à poluição. Da flora, 55% das espécies arbóreas e 40% das não-arbóreas são endêmicas, ou seja, só existem na Mata Atlântica. Das bromélias, 70% são endêmicas dessa formação vegetal, e das palmeiras são 64%. Estima-se que 8 mil espécies vegetais sejam endêmicas da Mata Atlântica.

De acordo com a Fundação Joaquim Nabuco, a Caatinga é um bioma brasileiro encontrado no Nordeste, nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e parte de Minas Gerais. Toda a área desse bioma abrange cerca de 11% do território brasileiro; apresenta clima semiárido, vegetação com pouca folhas e adaptadas para os períodos de secas, além de grande biodiversidade; o nome Caatinga significa, em tupi-guarani, “mata branca” que faz referência à cor predominante da vegetação durante a estação de seca, onde quase todas as plantas perdem as folhas para diminuir a transpiração e evitar a perda de água armazenada; no inverno, devido a ocorrência de chuva, as folhas verdes e as flores voltam a brotar; é um Bioma com grande importância ecológica, mas, apesar disso, calcula-se que 40 mil km² da Caatinga já foram transformados em quase deserto, o que é explicado pelo corte da vegetação para servir como lenha e pelo manejo inadequado do solo.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar, através da metataxonomia a partir de sequenciamento de alto desempenho, as diferenças existentes na microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* L. oriundas de dois biomas distintos, Mata Atlântica e Caatinga.,

2. Revisão de literatura

2.1 Caatinga

A Caatinga é o bioma predominante da região do Semiárido brasileiro, esta cobre cerca de 80% de sua área geográfica e ocupa uma área de 826.411,23 km² (IBAMA, 2009). Este bioma também é conhecido como sertão, agreste, cariri, Seridó, carrasco, sendo denominações populares dadas de acordo com as diferentes formações vegetais do bioma (ARAÚJO FILHO, 2013). O domínio desta vegetação se configura numa região diversificada de paisagens e tipos vegetacionais, composta por um mosaico de arbustos espinhosos, florestas gradualmente secas e clima semiárido que toma por completo o Ceará, e parte dos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Alagoas, Sergipe, Bahia e uma faixa que segue o rio São Francisco em Minas Gerais (PRADO, 2003). Essa diversidade é resultado das variações geomorfológicas, climáticas, topográficas e também das ações antrópicas que influenciam na diversidade e distribuição das espécies vegetais (ARAÚJO FILHO, 2013).

Segundo Moraes (2016), as plantas xerófitas, formadas por espécies que desenvolveram artifícios para sobreviver em ambiente com poucas chuvas e baixa umidade, são as principais plantas que compõem a vegetação da Caatinga. Neste bioma são comuns árvores baixas e arbustos na maioria das vezes espinhosos. Como exemplo temos os cactos, estes espinhos são folhas modificadas que diminuem a perda de água por transpiração (MORAES, 2016). A diversidade de plantas deste bioma é representada por mais de duas mil espécies, fazendo destaque em aproximadamente 130 espécies endêmicas (QUEIROZ, 2011); por conta disso este bioma é considerado rico em recursos genéticos quando comparado a outras regiões semiáridas no mundo (CALIXTO-JUNIOR & DRUMOND, 2014). Entretanto, a Caatinga é provavelmente o menos estudado quando se fala de fauna e flora e também um dos que mais tem sofrido com a degradação no decorrer dos últimos 400 anos em decorrência do uso predatório e desordenado (BEZERRA *et al.*, 2014). Com 51% da área alterada pela ação humana, a Caatinga é considerado o terceiro bioma mais degradado do Brasil (ALVAREZ & OLIVEIRA, 2013).

2.2 Mata Atlântica

Na Paraíba, a Mata Atlântica abrange duas grandes áreas totalizando 657.851,21 ha (6.578,51 km²) isso corresponde a 11,66% do território do estado e também ocupam total e parcialmente 63 municípios, adicionando também os ecossistemas de florestas ombrófila densa, aberta, sazonal sem decidual, espaços de tensão ecológica, formações desbravadoras (restingas e manguezais). Cerca de 1.692.369 pessoas formam a população vivente desta área. As atividades que mais sensibilizam a Mata Atlântica no estado, são o aumento da área de cultivo da cana de açúcar e a propagação de atividades voltadas para a carcinicultura nas áreas de manguezais (BRASIL, 2010).

No que diz respeito a áreas de maior concentração de mata, tem-se destaque nos municípios de Cruz do Espírito Santo, Santa Rita, Rio Tinto e Mamanguape. A disposição dos resquícios florestais tem potência para formar um corredor ecológico. Outra área de destaque corresponde aos remanescentes encontrados nos municípios de Areia e Alagoa Grande, esse conjunto é de grande interesse ecológico e social, pois se trata de fragmentos de mata serrana, comumente conhecida como brejo de altitude. O pico do Jabre que fica no município de Maturéia, pelo fato de se estabelecer num desflorestamento de Mata Atlântica em área de Caatinga, merece mais atenção levando em conta o declínio da área nos últimos anos (BRASIL, 2010).

O Ministério do Meio Ambiente (MMA) identificou na Paraíba a necessidade de intervenções em 279.361,30 ha priorizando para ações de criação de áreas protegidas, sendo elas unidades de conservação de proteção integral e uso sustentável além do fomento para o uso sustentável, a realização de inventários, criação de mosaicos e corredores de biodiversidade, além da definição de área de exclusão de pesca. O estado da Paraíba toma conta de 2,44% do território com Mata Atlântica sendo esta protegida por unidades de conservação federal e estadual (BRASIL, 2010).

2.3 Flora apícola

As plantas com suas flores existem desde a antiguidade, seu surgimento na terra foi estimando em mais de 120 milhões e anos atrás, eram caracterizadas pelo fato de oferecerem em

abundancia recursos alimentares que por sua vez eram utilizados pelos visitantes florais, estes visitavam várias flores afim de buscar alimento e consequentemente eles as polinizavam (SILVA et al., 2012).

A flora arbórea mais diversificada de todo mundo é encontrada no Brasil, é uma flora nativa que há milhares de anos passa por um processo de interação com o ambiente e através deste tempo de interação, passou por um processo rigoroso de seleção natural, gerando assim espécies geneticamente mais resistentes e adaptadas ao meio (LORENZI, 2002).

A região Nordeste do Brasil é caracterizada por suas temperaturas elevadas e por ser a região mais seca do país, possui alta variabilidade espacial e temporal de precipitações o que caracteriza o clima do semiárido (GOMES, 2010).

O semiárido brasileiro está entre uma média pluviométrica de 300 a 800 mm anuais, a evapotranspiração podendo alcançar 2700 mm anuais. A questão pluvial é marcada por duas estações e são elas: uma úmida onde tem a duração de 3 a 4 meses, é nesta que ocorre cerca de 80% das precipitações anuais; e a outra seca, que fica por conta dos meses restantes, esse período é destacado com temperatura megatérmica sendo sua média entre 25°C e 31°C, levando em consideração que junho e julho são os meses mais frios, a umidade relativa do ar varia entre 40 e 50% no período de seca e 80 a 90% no período de chuva, a caatinga se trata de um bioma que predomina no semiárido brasileiro, cobre maior parte da área geográfica, cerca de 80% o que é equivalente a 800 mil km² (ARAÚJO FILHO, 2013).

2.4 A flora apícola na Paraíba

Uma vegetação diversificada se faz presente no estado da Paraíba isso em decorrência das condições ambientais e geomorfológicas. A Paraíba está localizada na porção oriental do Nordeste brasileiro entre os meridianos de 34°45'45" e 38°45'45" longitude oeste e os paralelos de 06°2'12" e 08°19'18" latitude sul, fazendo conta de uma área de 56.762 km² (SILVA, 2010).

Segundo Nurit *et al*, (2005), em uma parte do interior da Paraíba é predominante o clima semiárido e assim registrando nesta área altas médias mensais de temperatura variando entre 25°C a 30°C e baixos índices pluviométricos com variações de 300 a 1000 mm de chuva que por sua vez é mal distribuída ao longo do ano condicionando assim uma vegetação xerofítica.

Através da realização de estudos de caracterização da flora apícola do estado da Paraíba, foram colhidas, identificadas e catalogadas 47 famílias que seguem: Amaranthaceae, 6 Amarilidaceae, Anacardiaceae, Apocinaceae, Arecaceae, Asteraceae ou Compositae, Bignoneaceae, Boraginaceae, Caparaceae, Capparidaceae, Caesalpinoideae, Combretaceae, Commelinaceae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Fabaceae (Caesalpinoideae), Gramineae, Labiateae, Lamiaceae, Leg. (Caesalpinoideae), Leg. (Mimosoidea), Leg. (Papilionoideae), Leguminosae, Loranthaceae, Malpighiaceae, Malvaceae, Melastomaceae, Meliaceae, Moringaceae, Myrtaceae, Nyctaginaceae, Passifloraceae, Plumbaginaceae, Polygonaceae, Portulacaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Sapindaceae, Simaroubaceae, Solanaceae, Sterculiaceae, Verbenaceae, Violaceae e Zygophyllaceae (SILVA, 2006).

2.5 Flora apícola no Cariri paraibano

O Cariri se trata de uma região que é integrada ao semiárido da Paraíba possuindo um clima sub desértico quente, com tendência tropical e precipitação acima de 300 mm anuais. Possui também curta estação chuvosa, seca prolongada e umidade relativa do ar na faixa de 65% (SILVA, 2006).

A flora conhecida no Cariri Paraibano apresenta cerca de 396 espécies, distribuídas em 90 famílias botânicas, sendo 85 famílias de angiospermas. A família mais diversificada é Leguminosae, com cerca de 71 espécies. Um total de 11 famílias de grande riqueza representam cerca de 57% do total de espécies que foram identificadas, entre elas: Asteraceae, Cyperaceae, Poaceae e Amaranthaceae, que são constituídas principalmente por espécies herbáceas, efêmeras, que se fazem presente apenas no período curto das chuvas. Quem também se destaca com sua riqueza florística é a família Euphorbiaceae, tanto os lenhosos como os herbáceos. As famílias Cactaceae e Bromeliaceae estão associadas a fisionomia da caatinga estão bem representadas nesta região. É importante lembrar também de espécies de famílias de ambientes aquáticos como por exemplo a Cabombaceae, Lemnaceae, Limncharitaceae, Menyanthaceae, Nymphaeaceae e Pontederiaceae que se apresentam apenas no período chuvoso nos açudes, barreiros e lagoas temporárias (BARBOSA *et al.*, 2007).

2.6 Microbioma das abelhas

As relações simbióticas entre microrganismos e hospedeiros são cada vez mais consideradas como fator chave para uma variedade de diferentes processos ecológicos e evolutivos. As bactérias existentes no intestino, particularmente, podem beneficiar o hospedeiro auxiliando na aquisição de nutrientes e protegendo contra parasitas e patógenos e modulando o desenvolvimento da função imunológica (E.G., KOCH AND SCHMID-HEMPEL 2011a; CHOUAIA *et al.* 2012; BRUCKER AND BORDENSTEIN 2013; ENGEL AND MORAN 2013; ENGEL *et al.* 2016).

O progresso e a manutenção da microbiota intestinal das abelhas podem ser de grande importância para a saúde e a aptidão do hospedeiro. Existem populações microbianas intestinais dominantes e que estão associadas a uma determinada espécie animal, constituindo, portanto, a “microbiota intestinal central”, que desempenha um papel essencial na fisiologia do hospedeiro através da simbiose (SHADE, 2012). De maneira geral, a composição da microbiota intestinal pode sofrer influência de diversos fatores, podendo esses fatores serem divididos em fatores intrínsecos e extrínsecos ao hospedeiro, (CARMODY, *et al.*, 2015; GAO, *et al.*, 2018; SHAPIRA, 2016; SMITH, *et al.*, 2015).

Os insetos são animais sociais, particularmente abelhas, sendo consideradas como modelos muito importantes para a determinação da extraordinária gama de influências das comunidades microbianas nos seus hospedeiros. A questão das perdas das colônias de abelhas em todo o mundo requer uma compreensão mais detalhada dos componentes patogênicos e mutualistas das comunidades microbianas deste polinizador de grande importância ecológica e econômica (GALLAI, SALLES, SETTELE, & VAISSIÈRE, 2009; OLLERTON, WINFREE, & TARRANT, 2011), em específico a associação entre o meio ambiente e a comunidade microbiana (ENGEL *et al.*, 2016).

O entendimento acerca da microbiota intestinal de *Apis mellífera* progrediu muito recentemente. Através de um estudo relata-se que essas abelhas apresentam uma comunidade microbiana consistente e característica, entretanto, algumas espécies microbianas ainda não possuem funções exploradas (RAYMANN E MORAN, 2018). Estudos demonstraram características diferentes que tornam o ambiente intestinal das *Apis mellífera* único entre os insetos. Primeiramente, como na maioria dos animais sociais, as abelhas são colaboradoras da microbiota, ou seja, a microbiota de uma abelha é passível de ser transmitida para outra

abelha, isso ocorre devido contato direto nas primeiras interações sócias com os demais companheiros da colmeia (ENGEL E MORAN, 2013; POWELL *et al.*, 2014). Consequentemente, as comunidades intestinais podem apresentar uma grande resistência ecológica, o que significa dizer que, mesmo com variações ambientais, um grupo diferente do organismo é mantido tanto entre os indivíduos quanto dentro dos indivíduos (MORAN *et al.*, 2012).

A formação taxonômica das características da microbiota (que é em grande parte composta por espécies encontradas apenas nas abelhas sociais), junto com as contribuições bioquímicas críticas ao hospedeiro, recomenda uma relação altamente especializada e co-evolutiva entre os micróbios e a *Apis mellífera* (MARTINSON *et al.*, 2011). Organismos usados como modelo dispõem de oportunidades para estudar a questão das interações do hospedeiro-microbioma através de um nível de controle experimental no qual não é possível em estudos humanos, modelos podem ser utilizados afim de entender a questão das associações entre o microbioma e a doença. A microbiota intestinal nos insetos sociais, como abelhas (*Apis mellífera*), são em especial úteis como modelos, pois dividem características comuns com comunidades de mamíferos (POWELL, 2014).

Certificou-se que uma enorme gama de microrganismos está associada a abelhas e seus alimentos, sendo eles néctar, pólen, mel e própolis (GILLIAM, 1988). Os microrganismos presentes na microbiota das abelhas, digerem e fermentam os componentes da parede celular vegetal e produzem vitaminas essenciais (ZHENG, 2018; DILLON, 2004). Um estudo prévio, identificou oito fitotipos característicos, anaeróbicos ou microaerófilos encontrados em vários ambientes e locais geográficos (JEYAPRAKASH, 2003; MORAN, 2015). As bactérias "núcleo" mais abundantes nas abelhas adultas são proteobactérias Gram-negativas, por exemplo, *Snodgrassella* e *Gilliamella* ssp (KWONG, 2013) e firmicutes Gram-positivas, incluindo *Lactobacillus* ssp. (BABENDREIER, 2007). Menos abundantes são *Bifidobacterium* ssp. (BOTTACINI, *et al.*, 2012), *Frischella*, *Bartonella*, *Parassacharibacter* e *Gluconobacter* (BABENDREIER, 2007). As abelhas adquirem essas bactérias no início da vida e a maioria as retém ao longo de sua vida (DONG, 2020).

2.7 Identificação taxonômica da microbiota

Embora ambos os termos microbioma e microbiota refiram-se à comunidade microbiana encontrada em um organismo maior ou em ambiente mais denso, a expressão “microbioma” é geralmente mais aceita como o genoma coletivo ou material genético da ‘microbiota’. Os

métodos atuais de abordagem para determinar a taxonomia da microbiota em *Apis mellífera* são principalmente os métodos genômicos, ou seja, aqueles baseados na identificação de uma determinada sequência genômica para um grupo microbiano específico (bactérias ou eucariontes) com diferentes níveis de resolução de filo a espécie ou até mesmo para cepa (ROMERO *et al.*, 2019). Para tanto, ocorre o isolamento do DNA genômico, seguido pelo sequenciamento de todo o genoma (metagenômica shot gun), ou de genes ou regiões específicas, tendo-se então em uma abordagem baseada em amplicon

Dependendo da origem da amostra microbiana, as abordagens genômicas podem ser classificadas em métodos dependentes ou independentes de cultivo. Os métodos independentes de cultivo são muito recomendados para a obtenção do perfil taxonômico nas comunidades microbianas, devido ao fato de muitas espécies não poderem ser facilmente cultivadas. Culturas que seguem um foco no enriquecimento de organismos componentes previamente determinados podem ser usados para estudos de fenotipagem e caracterização profunda (ROMERO *et al.*, 2019). O sequenciamento do amplicon rRNA 16S é o método independente de cultivo mais comumente usado independente de cultivo para analisar comunidades bacterianas e forneceu informações valiosas sobre a distribuição de bactérias entre os habitats (LEY, 2008).

2.8 Relação da nutrição com a microbiota intestinal das abelhas

A principal fonte de carboidratos, proteínas e aminoácidos em insetos é o grão de pólen, que por sua vez é coletado pelos insetos e utilizado como a principal fonte de nutrição. As abelhas constroem pequenas cavidades nos favos chamados de alvéolos, onde depositam os grãos de pólen que são coletados durante a época de floração. Os alvéolos por sua vez não exercem a função apenas de armazenamento, mas também apresenta condições favoráveis à biotransformação do pólen em pão de mel e isto ocorre através da ação das enzimas presentes na saliva das abelhas e que são depositadas nos alvéolos e estes por fim são selados havendo assim alteração do pH do meio (GILLIAM, 1979).

O pólen torna-se pão de mel após o período da armazenagem e neste período ocorre à quebra das proteínas, tornando assim disponível para a nutrição das abelhas a quantidade ideal de aminoácidos. Enquanto a mistura de grão de pólen e saliva está armazenada ela também fica exposta ao contato das abelhas que estão dentro da colmeia (BRODSCHNEIDER & CRAILSHEIM, 2010).

Com o pólen armazenado tem-se a atividade de degradação do mesmo que por sua vez torna o composto mais fácil de ser assimilado. Pode ser imediatamente consumido em termos de carboidratos menores, pois são mais simples, podendo ser consumido tanto pelas abelhas como também pela comunidade microbiana que se desenvolve no pão de mel utilizando como fonte de alimento e também auxiliando na quebra do mesmo (GILLIAM, 1997).

As abelhas não consomem o pólen cru, ao invés disso as operárias fazem o processo no pólen que coletam, envolvendo-os em favo de mel, adicionando secreções salivares a ele e por fim selando com mel (GILLIAM, 1979). Posteriormente, o pólen é amadurecido em pão de abelha durante semanas, isso devido à atividade de microrganismos que são encontrados no pão de abelha, mas que estão ausentes no pólen não processado (VASQUEZ, 2009). A composição química do pão de abelha é diferente daquela do pólen, já que ele tem maior teor de vitamina (HAYDAK, 1950), menor quantidade de polissacarídeos complexos, mudanças nos aminoácidos (STANDIFER, 1980). A sugestão é de que as alterações que ocorrem na composição nutricional sejam resultado da atividade metabólica da microflora presente no pólen armazenado (GILLIAM, 1979; VASQUEZ, 2009; HERBERT, 1978).

Através de estudos das comunidades microbianas que estão em relação com os animais, foi descoberto interações entre hospedeiro e o simbiote, firmando a importância que representa a degradação e na assimilação dos nutrientes para a alimentação (MARTINSON et al., 2011, OLOFSSON & VASQUEZ, 2008, VASQUEZ et al., 2009). Foi observado através de estudos que estruturas e atividades microbianas seriam responsáveis pelo bom funcionamento relacionado à dieta com pão de mel (pólen processado) e a formação de uma comunidade microbiana situada no interior do trato digestório da abelha e assim contribuindo para um melhor estado de saúde (OLOFSSON & VASQUEZ, 2008).

É de extrema importância que o inseto se mantenha saudável, pois isso influencia no desenvolvimento das várias funções dos microrganismos dentro da comunidade microbiana (BRODSCHNEIDER & CRAILSHEIM, 2010). Uma comunidade bacteriana ampla em termos de espécies faz com que o trato digestório da abelha esteja mais capacitado para realizar atividade de degradação dos nutrientes (BUNGE et al., 2014).

A microbiota intestinal de *Apis mellifera*, esta pode estar envolvida nos processos nutricionais, por exemplo: utilização e desagregação dos grãos de pólen e também degradar compostos tóxicos que são encontrados no ambiente (ENGEL et al. 2012). As bactérias intestinais, além de estarem envolvidas em processos de degradação, também podem desempenhar papel de defesa contra patógenos, ou seja, podem produzir compostos inibitórios

ou monopolizar nutrientes no intestino (FORSGREN *et al.* 2010; KOCH E SCHMID-HEMPEL 2011; ENGEL *et al.* 2012).

3. Material e métodos

3.1 Projeto experimental

O experimento foi realizado em dezembro de 2019 com coletas na cidade de Areia-PB (6 ° 58'20 "S e 35 ° 43'16,9" W; Altitude de 545 m acima do nível do mar), apresentando temperatura média anual de 22,54 ° C, umidade relativa média de 83,65% e precipitação anual acumulada de 1360,2 em 2019 (INMET, 2020) em região de Mata Atlântica e na cidade de São João do Cariri (7° 12' 43" S, 36° 37' 46" W; altitude 510 m do nível do mar) região de Caatinga. A coleta foi feita no período seco do ano, no fim da primavera que durou de 23 de setembro de 2019 a 22 de dezembro do mesmo ano, caracterizando-se, portanto, como período seco que demonstrou aumento de temperatura e ausência de chuvas, isso em ambas as regiões (Brejo e Caatinga), sendo mais evidente na Caatinga por ser uma região já caracterizada por seu clima seco.

Cinco amostras, com média de 35 abelhas *Apis mellifera* africanizadas, foram coletadas de cinco colmeias diferentes no apiário localizado em Areia (pertencente Setor de Apicultura da Universidade Federal da Paraíba), e de cinco colmeias nidificadas no apiário de São João do Cariri (Pertencente à Fazenda Experimental da UFPB). Para a coleta usou-se os equipamentos de EPI e instrumentos necessários ao manejo de abelhas da espécie *Apis mellifera*. As abelhas foram colocadas em tubos estéreis contendo álcool 70% e por fim encaminhadas ao Laboratório de Análise de Produtos de Origem Animal (LAPOA / CCA / UFPB) e armazenadas a -20°C até a dissecação

3.2 Preparação das amostras e extração de DNA

Os intestinos das abelhas foram dissecados em ambiente estéril, antes de iniciar a extração, as amostras de abelhas foram deixadas em um papel de filtro estéril por um período de 10 minutos a fim de descongelar e evaporar o álcool. No processo de dissecação foi feito um corte transversal no último segmento do abdômen da abelha e, em seguida o conteúdo foi exposto e agrupado em tubos a cada replicação. O DNA foi extraído com o kit de extração de DNA PowerSoil TM (MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A qualidade e a concentração foram avaliadas em gel de agarose e as

proporções 260/280 e 260/230 com um espectrofotômetro de microvolume Colibri LB 915 (Titertek-Berthold, Alemanha).

3.3 Preparação das bibliotecas e sequenciamento

As bibliotecas compostas de amplicos do gene rRNA 16S foram preparadas e sequenciadas junto ao Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal (LAPOA / CCA), Brasil. A região V3-V4 do gene 16S rRNA microbiano foi amplificada por PCR com 2,5 µL de amostra de DNA (5 ng / µL), 5 µL de primer direto, 5 µL de primer reverso e 12 µL 2X KAPA HiFi HotStart ReadyMix (KAPA Biosystems, Wilmington , MA, EUA) em um volume total de 25 µL. As condições de reação começaram com uma desnaturação inicial a 95 ° C por 3 min, seguida de 25 ciclos a 95 ° C por 30 s, 55 ° C por 30 s e 72 ° C por 30 s e uma extensão final a 72 ° C por 5 min. Os primers usados foram os seguintes: 341F (5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CCT ACG GGN GGC WGC A – 3 ') e 805R (5'-GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGA CTA CHV GGG TAT CTA ATC C – 3 ') (Illumina, 2013).

A purificação das bibliotecas foi realizada com esferas AMPure XP (Illumina, San Diego, CA, EUA), quantificadas por qPCR e a qualidade avaliada pelo kit High-Density DNA Assay no Fragment Analyzer (Advanced Analytical Technologies Inc., Ankeny, Iowa, EUA). Com os resultados, as bibliotecas foram diluídas usando tampão de ressuspensão (RSB) ou Tris 10 mM pH 8,5 a 4 nM. Alíquotas de 5 µl de DNA diluído de cada biblioteca e alíquotas de mistura foram usadas para agrupar bibliotecas com índices únicos.

O sequenciamento foi realizado em um MiSeq (Illumina) usando uma corrida pareada de 251 ciclos e o kit de sequenciamento V2 de 500 ciclos (Illumina), de acordo com as instruções do fabricante. Pelo menos 5% do DNA PhiX foi adicionado como controle para a execução do MiSeq (Kit PhiX, Illumina).

3.4 Processamento de dados de sequenciamento e estatísticas

O material sequenciado foi analisado usando a plataforma QIIME 2-2020.2 (Bolyen et al., 2019). As sequencias foram filtradas, removidas de ruído e, em seguida, analisadas para sequências não quiméricas usando DADA2, produzindo Variantes de Sequência de Amplicon (ASV) (Callahan et al., 2016).

Para a avaliação da diversidade alfa, os índices de diversidade filogenética de Shannon e Faith foram usados para estimar a riqueza das comunidades microbianas e diversidade filogenética da amostra, respectivamente.

Para a avaliação da diversidade beta, foram utilizadas as medidas de distâncias de Jaccard para avaliar qualitativamente a dissimilaridade da comunidade, Unifrac Ponderada para avaliar quantitativamente a dissimilaridade da comunidade que incorpora relações filogenéticas entre as características, Unifrac Não Ponderada como medida qualitativa da dissimilaridade da comunidade que incorpora relações filogenéticas entre as características e, por fim, a medida de Bray Curtis para avaliar quantitativamente a dissimilaridade da comunidade. E todos estes índices foram calculados na plataforma QIIME 2-2020.2 (Bolyen et al., 2019).

Análise de composição de microbiomas (ANCOM) foi aplicada para avaliar diferenças nas abundâncias de taxa entre os tratamentos (Mandal et al., 2015). As abundâncias relativas dos ASVs observadas em ANCOM foram comparadas. Os dados foram testados para normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk, e uma análise de variância (ANOVA) de duas vias foi aplicada para observar diferenças significativas sob um valor de $P < 0,05$. Todos os gráficos foram construídos usando a plataforma QIIME 2-2020.2 (Bolyen et al., 2019) e o plugin Emperor 2020.2.0 foi usado para visualizar e exportar os gráficos de diversidade beta e os demais foram construídos no R Studio (Ripley, 2001)

4. Resultado e discussão

4.1 Composição taxonômica

Para a composição taxonômica, foi obtido um total de sequenciamento de 623.229 16S rRNA V3-V4 do total das 10 amostras das duas condições de exposição paisagística. Após a filtragem de qualidade obteve-se 590.517 sequencias (94,75%) e após a retirada de ruído obteve-se 585.109 sequencias (93,88%) que agruparam em um total de 614 ASVs (Amplicon Sequence Variant) diferentes com frequência total de reads de 341.529 para Mata Atlântica e Caatinga. Foi possível atribuir 98% das sequências até o nível de gênero, identificando-se as principais taxas: gêneros *Lactobacillus*, *Commensalibacter*, *Snodgrassella*, *Gilliamella* e *Bifidobacterium*, e as famílias Rhizobiaceae, e Orbaceae.

4.2 Diversidade Alfa

A **Figura 1** apresenta o índice de diversidade de Shannon, representando a riqueza de taxa dentro das regiões, ou seja, dentro da Mata Atlântica e da Caatinga, não apresentando diferença significativa entre as regiões.

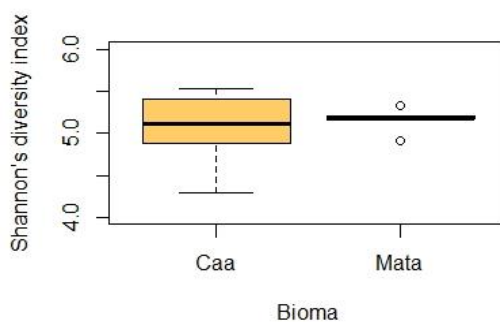


Figura 1: Riqueza da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* dos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Shannon.

Relativamente às principais ASVs encontradas na microbiota intestinal das abelhas, apresenta-se na Figura 2 suas abundâncias relativas, que são calculadas para cada amostra através da divisão do total de ASV pelo valor encontrado de determinado gênero na referida amostra. Assim, este componente de diversidade demonstra o quão comum ou raro são estas oito famílias dentro dos biomas da Mata Atlântica e da Caatinga. Observa-se que sete taxon, incluindo gêneros famílias, foram abundantes na microbiota de abelhas de ambas as regiões, porém uma abundância significativamente maior de *Apibacter* foi observada em abelhas da Mata Atlântica comparativamente àquelas da Caatinga.

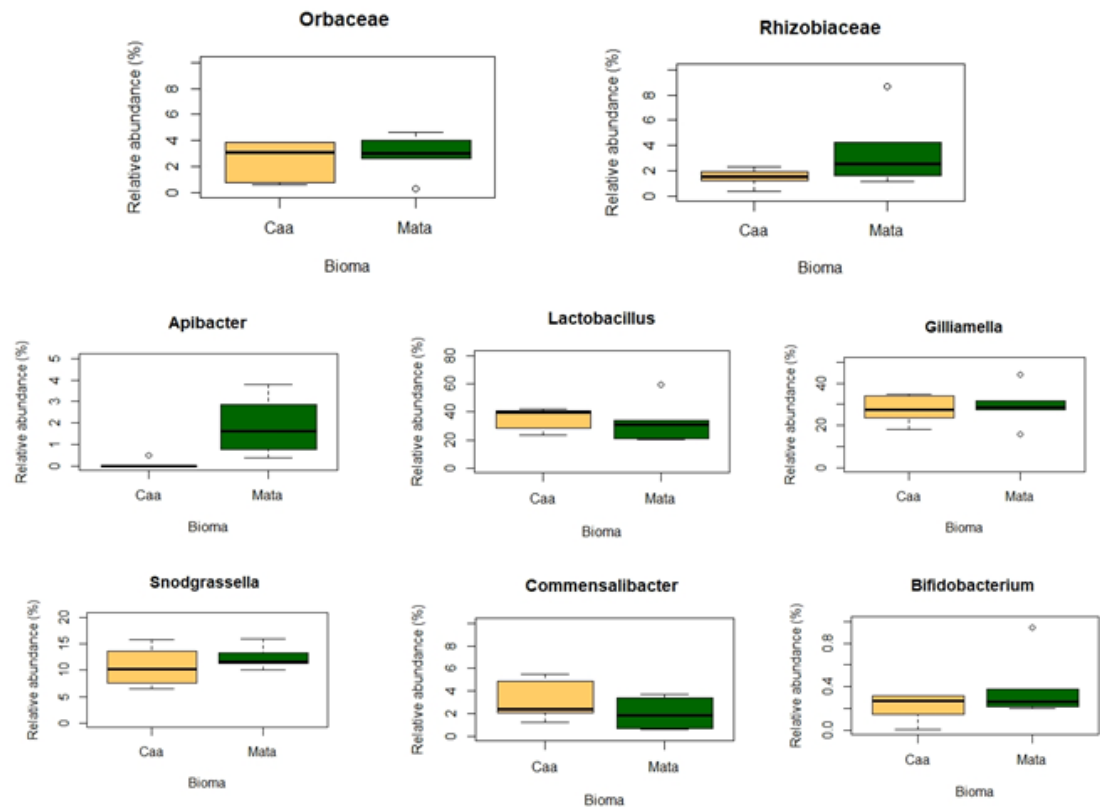


Figura 2: Abundância relativa de oito principais gêneros bacterianos da microbiota intestinal de abelhas africanizadas.

De acordo com Kwong & Moran (2016), as abelhas africanizadas e também os zangões abrigam indivíduos do filo Bacterioidetes. Através de pesquisa cultivo-independentes, utilizando o gene rRNA 16S, observou-se presença de sequências pertencentes à ordem Flavobacteriales. Embora a sua abundância seja menor comparada àquelas do núcleo da microbiota intestinal das abelhas (BABENDREIER et al., 2007; KOCH & SCHMID-HEMPEL, 2011; AHN et al., 2012; MORAN et al., 2012; LIM et al., 2015), as sequências de Flavobacteriales formam um clado monofilético, sugerindo que são específicos para o intestino das abelhas ou para outros ambientes como por exemplo as plantas, néctar e até mesmo material da colmeia, dessa forma estão sujeitos a serem ingeridos pelas abelhas.

Na Figura 3, observa-se a diversidade filogenética alfa entre abelhas *Apis mellífera* dos dois biomas, determinada através do índice de similaridade filogenética de Faith. Não ocorreu diferença significativa ($p=0,347$).

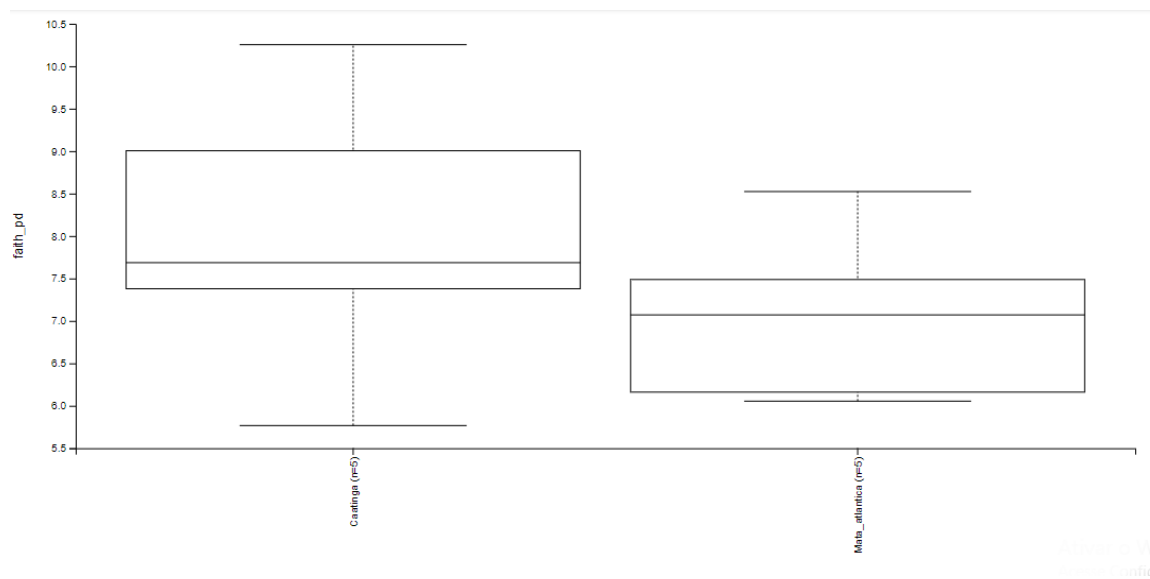


Figura 3: Diversidade alfa da microbiota de abelhas *Apis mellifera* dos biomas Caatinga e Mata Atlântico, de acordo com o índice de similaridade filogenética de Faith.

4.3 Diversidade beta

A Figura 4 apresenta a diversidade beta da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Bray-curtis. Observa-se que as abelhas dos dois biomas apresentaram diferenças significativas em suas comunidades microbianas intestinais ($p=0,015$), ou seja, houve dissimilaridade entre as amostras da Caatinga e da Mata Atlântica, assim como foi possível identificar dissimilaridades entre colmeias de um mesmo bioma.

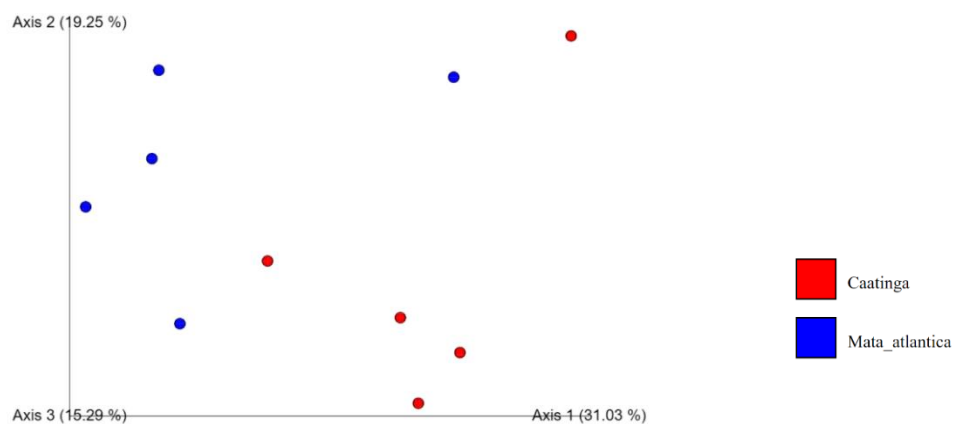


Figura 4: Diversidade beta da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Bray-curtis.

Figura 5, observa-se a diversidade beta da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Jaccard, o qual considera qualitativamente a dissimilaridade. Houve diferença significativa na diversidade beta da microbiota das abelhas entre os biomas ($p = 0,007$). Houve maior dissimilaridade entre as colmeias da Caatinga relativamente às colmeias da Mata Atlântica,

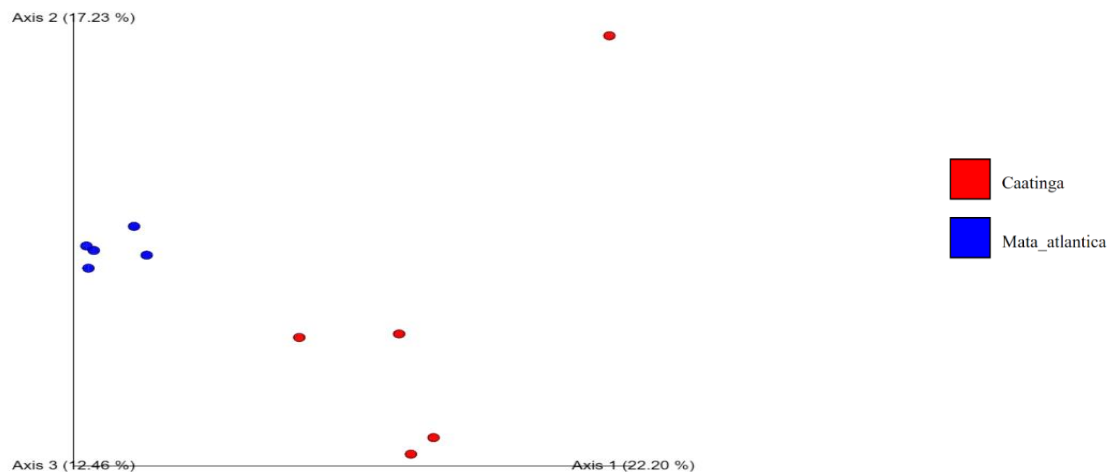


Figura 5: Diversidade beta da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com o índice de similaridade de Jaccard.

Segundo Tamarit (2015), as simbioses microbianas foram descritas como fator importante na socialização dos insetos. Portanto, deve-se considerar os parâmetros ecológicos e traços comportamentais como estimuladores de simbioses persistentes em todo o espectro solitário e social de insetos (MOHR, 2007). Além das interações inerentes do decorrer da vida como também a estrutura social, estão as influências ambientais, a construção de nicho, substrato de ninhos e armazenamento de alimentos relacionados a estrutura da colmeia (LI, et al., 2015; MOHR, 2006; VOJVODIC, 2013). De certa forma, esses componentes formam a estrutura do ninho anatômico que sustenta a fisiologia da colmeia (SCHLOISSNIG, et al., 2013; KAPHEIM, et al., 2015; TARP, 2015).

A Figura 6 apresenta análise de componentes principais (PCoA) da diversidade beta de comunidades bacterianas intestinais de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com a métrica filogenética Unifrac ponderada. Não houve diferença significativa entre os biomas ($p = 0,263$), indicando haver abundância similar de taxa na microbiota intestinal de abelhas da Caatinga e da Mata Atlântica.

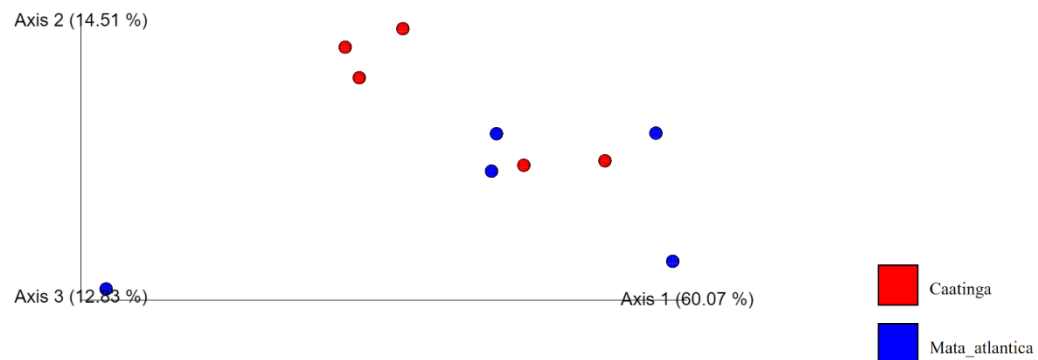


Figura 6: Análise de componentes principais (PCoA) da diversidade beta de comunidades bacterianas intestinais de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com a métrica filogenética Unifrac ponderada.

A Figura 7 apresenta a análise de componentes principais (PCoA) da diversidade beta de comunidades bacterianas intestinais de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com a métrica filogenética Unifrac ponderadaa qual enfatiza a relação filogenética no calcula das distâncias. Houve diferença significativa ($p = 0,012$), indicando haver diferenças de abundância entre as populações microbianas das abelhas da Caatinga e da mata Atlântica, quando considerada a relação filogenética entre a taxa identificada.

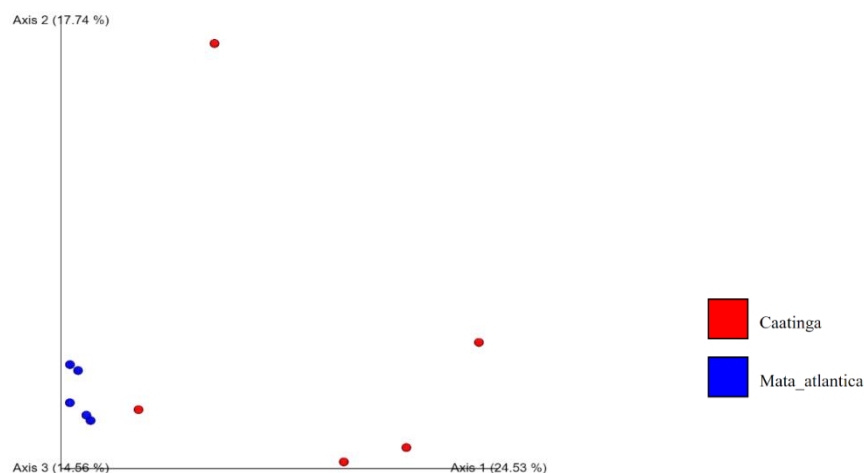


Figura 7: Análise de componentes principais (PCoA) da diversidade beta de comunidades bacterianas intestinais de abelhas *Apis mellifera* nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, de acordo com a métrica filogenética Unifrac ponderada.

Observa-se que alguns táxons da comunidade microbiana dominante das abelhas diferem em abundância relativa de acordo com a exposição paisagística. Esses resultados são

concordantes quando mensurados a partir de métricas diferentes (Bray-curtis, Jaccard, Unifrac-ponderado e Unifrac-não ponderado). Os resultados sugerem que o ambiente no qual as abelhas estão expostas, incluindo diferenças ambientais entre locais individuais, pode afetar a comunidade microbiana intestinal, especificamente a abundância relativa de determinadas comunidades (JONES, et al., 2018). Em estudo sobre caracterização da microbiota de um grande número de insetos (Yun et al., 2014), observou-se que a abundância relativa de taxa bacterianos no intestino variou de acordo com os habitats ambientais dos insetos, atribuindo-se esse resultado a diferenças nos níveis disponíveis de oxigênio no habitat dos insetos

Os resultados do presente estudo mostram famílias e gêneros comuns presentes nas amostras dos diferentes biomas, incluindo os gêneros *Lactobacillus*, *Gilliamella* e *Snodgrassella*. A maior presença destes gêneros pode ser explicada pelo fato de que no intestino das abelhas africanizadas são dominadas por um conjunto de nove espécies bacterianas conhecidos como filotipos, na maior parte restritas no intestino grosso (KWONG, 2014).

Cinco dessas espécies, *Snodgrassella alvi*, *Gilliamella apicola*, duas espécies de *Lactobacillus* e uma espécie de *Bifidobacterium*, são onipresentes e podem ser encontradas em essencialmente todas as abelhas adultas do mundo; com isso são consideradas como constituintes do microbioma intestinal central. Outras (*Bartonella apis*, *Apibacter adventoris*, *Frischella perrarae* Acetobacteraceae) estão presentes no intestino de abelhas adultas, porém às vezes ausentes. Um número menor de bactérias, muitas vezes representando espécies ambientais, ocorre no intestino anterior e médio (MARTINSON, 2012).

Cada espécie bacteriana do núcleo apresenta uma distribuição característica dentro do intestino grosso. *S. alvi* e *G. apícola* dominam a região do íleo no intestino médio, onde *S. alvi* forma uma camada contínua no revestimento das dobras longitudinais, e *G. apicola* ocorre no topo (RAYMANN, 2018).

A Figura 8 mostra a composição taxonômica da microbiota intestinal das abelhas expostas a diferentes biomas.

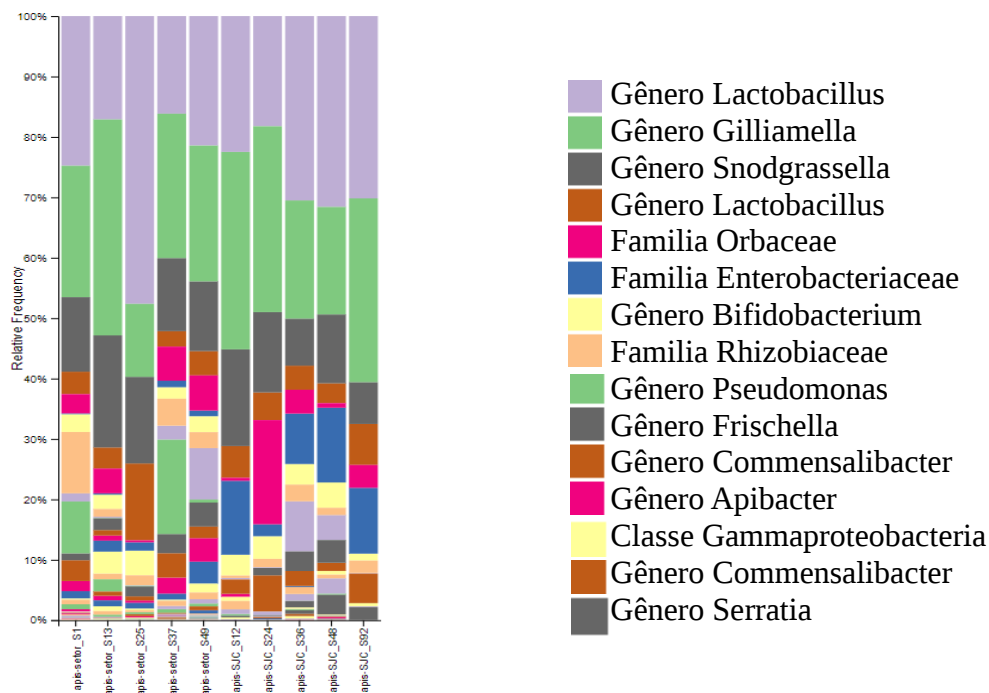


Figura 8: Composição taxonômica da microbiota intestinal de abelhas nos biomas Caatinga (amostras apis SJC_S12, SJC_S24, SJC_S36, SJC_S48, SJC_S92), SJC_S1212XXXXX) e Mata Atlântica (apis setor_S1, apis setor_S13, apis setor_S25, apis setor_S37, apis setor_S48).

Várias espécies bacterianas mais raras no intestino das abelhas provavelmente representam os tipos de organismos oportunistas, incluindo potenciais patógenos. Nesses grupos observamos espécies de Enterobacteriaceae e *Serratia*; eventualmente Enterobacteriaceae são reconhecidos como responsáveis por causar mortalidade das abelhas, uma vez que elas, quando infectadas, geralmente deixam a colmeia para morrer e tem uma provável probabilidade de se acumularem nas colmeias durante o inverno (BURRITT, 2016). Diferentes espécies de *Serratia* tem sido solada com frequência de hospedeiros de insetos, sendo mais de 70 espécies de insetos comprovadamente susceptíveis à infecção por *Serratia* ssp (GRIMONT, 1978).

A Figura 9 mostra o mapa de calor da abundância de taxa bacterianas da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* dos biomas Caatinga e Mata Atlântica. Pode-se observar maior abundância do gênero *Apibacter* nas abelhas da Mata Atlântica, assim como os gêneros *Commensalibacter* e a família *Rhizobiaceae*, em menor intensidade os gêneros *Gilliamella*, *Lactobacillus* e *Snodgrassella* mostraram baixa abundância em abelhas de ambos os biomas, assim como a família *Enterobacteriaceae*. Os gêneros *Frischella*, *Bifidobacterium* e *Proteobacterium* foram relativamente abundantes.

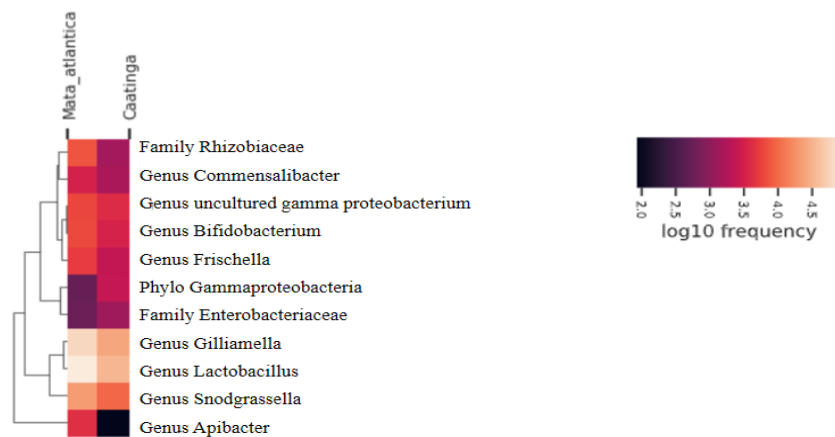


Figura 9: Mapa de calor da abundância de taxa bacterianos da microbiota intestinal de abelhas *Apis mellifera* dos biomas Caatinga e Mata Atlântica.

São vários os fatores que influenciam na composição da microbiota das abelhas, como dieta, respostas imunes, estresse, envelhecimento, habitat e exposição a antibióticos) Evidências sugerem que, à medida que os trabalhadores envelhecem e visitam a forragem, a composição do microbioma muda ligeiramente (CORBY-HARRIS, 2014; ANDERSON, 2016).

Os números relativos de *S. alvi* e *G. apicola* na composição do microbioma pode mudar ao longo da estação, consequentemente refletindo mudanças na dieta (LUDVIGSEN, 2015) A má nutrição tem afetado o microbioma intestinal normal, como consequência temos maior mortalidade e suscetibilidade à doença (MAES, 2016). Com isso a função do sistema imune das abelhas é afetada, uma vez que o microbioma das abelhas estimula as vias imunológicas (EMERY, 2017; SCHWARZ, 2016; KWONG, 2017). A função imune inata da abelha também demonstrou ser comprometida pela estimulação de respostas de estresse celular (MCKINSTY, 2017). Todas essas descobertas juntas sugerem que a disbiose pode ter consequências na capacidade das abelhas de responder a estressores ambientais, como por exemplo, a má nutrição ou estresse de temperatura e esses estressores podem impactar o microbioma (RAYMANN, 2018).

5. Conclusão

Abelhas *Apis mellifera* expostas a diferentes tipos de paisagem apresentam diferenças significativas em suas comunidades microbianas intestinais, embora a variância demonstrada pelo tipo paisagístico seja relativamente baixa. Alguns membros da comunidade microbiana dominante de abelhas operárias diferem em abundância relativa de acordo com a paisagem exposição. Há, portanto, necessidade de se entender o potencial impacto dessas diferenças na saúde das abelhas e, conseqüentemente, implementar medidas que de modificação de paisagem que auxiliem na saúde dos animais.

6. Referências Bibliográficas

- AHN, J.-H., HONG, I.-P., BOK, J.-I., KIM, B.-Y., SONG, J. & WEON, H.-Y. (2012). Pyrosequencing analysis of the bacterial communities in the guts of honey bees *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Korea. *J Microbiol* 50, 735–745.
- ANDERSON KE, RODRIGUES PA, MOTT BM, Maes P, Corby-Harris V: Ecological succession in the honey bee gut: shift in *Lactobacillus* strain dominance during early adult development. *Microb Ecol* 2016, 71:1008-1019.
- ALVAREZ, I. A.; OLIVEIRA, A. R. Portal Dia de Campo. Artigos especiais. Manejo da Caatinga é essencial ao desenvolvimento do Semiárido, 2013. Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Newsletter.asp?id=27746&secao=Artigos%20Especiais>.
- ARAÚJO FILHO, J. A. de. Manejo Pastoril Sustentável da Caatinga. Recife, PE: Projeto Dom Helder Camara, 2013. 200p.
- BABENDREIER D, JOLLER D, ROMEIS J, BIGLER F, WIDMER F. Bacterial community structures in honeybee intestines and their response to two insecticidal proteins. *FEMS Microbiol Ecol*. 2007; 59(3): 600–610. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00249.x> PMID: 17381517.
- BARBOSA, et al, Vegetação e flora no Cariri paraibano, Ed. EDUEPB. Campina Grande. 2007. 120p.
- BEZERRA, J. M.; MOURA, G. B. A.; SILVA, B. B.; LOPES, P. M. O.; SILVA, E. F. F. Parâmetros biofísicos obtidos por sen-soramento remoto em região semiárida do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18 (1), 73–84, 2014. doi: 10.1590/S1415-4366201400010001
- BOLYEN, E., RIDEOUT, J.R., DILLON, M.R., BOKULICH, N.A., ABNET, C., AL-GHALITH, G.A., ALEXANDER, H., ALM, E.J., ARUMUGAM, M., ASNICAR, F., others, 2018. QIIME 2: Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science. *PeerJ Prepr*. <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.27295v2>
- BOSCH, T. C. G., & MCFALL-NGAI, M. J. (2011). Metaorganisms as the new frontier. *Zoology*, 114, 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2011.04.001>.
- BOTTACINI F, MILANI C, TURRONI F, SA´NCHEZ B, FORONI E, DURANTI S, et al. *Bifidobacterium asteroides* PRL2011 genome analysis reveals clues for colonization of the insect gut. *PLOS ONE*. 2012; 7(9): e44229. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044229> PMID: 23028506.
- BRASIL. Mata Atlântica: Patrimônio Nacional dos Brasileiros. Biodiversidade 34. Brasília: 2010
- BRODSCHNEIDER, R; CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 2010, p. 278–294.

- BRUCKER R.M., BORDENSTEIN SR (2013) The hologenomic basis of speciation: gut bacteria cause hybrid lethality in the genus *Nasonia*. *Science* 341:667–669. <https://doi.org/10.1126/science.1240659>.
- BUNGE, J; WILLIS, A; WALSH, F. Estimating the Number of Species in Microbial Diversity Studies. *Annu. Rev. Stat. Appl.*, 2014, p.427–45.
- BURRITT NL, FOSS NJ, NEENO-ECKWALL EC, CHURCH JO, HILGER AM, HILDEBRAND JA, WARSHAUER DM, PERNA NT, BURRITT JB: Sepsis and hemocyte loss in honey bees (*Apis mellifera*) infected with *Serratia marcescens* strain sicaria. *PLoS ONE* 2016, 11: e0167752.
- CALIXTO JÚNIOR, J. T.; DRUMOND, M. A. Estudo comparativo da estrutura fitossociológica de dois fragmentos de Caatinga em níveis diferentes de conservação. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 34(80), 345-355, 2014. doi: 10.4336/2014.pfb.34.80.67
- CALLAHAN, B.J., MCMURDIE, P.J., ROSEN, M.J., HAN, A.W., JOHNSON, A.J.A., HOLMES, S.P., 2016. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods* 13, 581. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- CHOUAIA B, Rossi P, Epis S et al (2012) Delayed larval development in *Anopheles* mosquitoes deprived of *Asaia* bacterial symbionts. *BMC Microbiol* 12(12):S2. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-S1-S2>
- CARMODY, R. N. et al. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host Microbe* 17, 72–84, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.11.010> (2015).
- CORBY-HARRIS, V., MAES, P., & ANDERSON, K. E. (2014). The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *PLoS ONE*, 9, e95056-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095056>
- CORBY-HARRIS, V., SNYDER, L. A., SCHWAN, M. R., MAES, P., MCFREDERICK, Q. S., & ANDERSON, K. E. (2014). Origin and effect of Alpha 2.2 *Acetobacteraceae* in honey bee larvae and description of *Parasaccharibacter apium* gen. nov., sp. nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 7460–7472. <https://doi.org/10.1128/AEM.02043-14>.
- COSTA-MAIA, F. M.; LOURENÇO, D. A. L.; TOLEDO, V. A. A. Aspectos econômicos e sustentáveis da polinização por abelhas. *Sistemas de Produção Agropecuária (Ciências Agrárias, Animais e Florestais)*, p. 45-67, 2010.
- COX-FOSTER, D. L., CONLAN, S., HOLMES, E. C., PALACIOS, G., EVANS, J. D., MORAN, N. A., ... LIPKIN, W. I. (2007). A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318, 283–287. <https://doi.org/10.1126/science.1146498>
- DILLON RJ, DILLON VM. The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annu Rev Entomol.* 2004; 49(1): 71–92. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123416>.
- DONG ZX, LI HY, CHEN YF, WANG F, DENG XY, LIN LB, et al. Colonization of the gut microbiota of honey bee (*Apis mellifera*) workers at different developmental stages. *Microbiol Res (Pavia)*. 2020; 231: 126370. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126370>.
- ELLEGAARD, K. M., TAMARIT, D., JAVELIND, E., OLOFSSON, T. C., ANDERSSON, S. G., & VÁSQUEZ, A. (2015). Extensive intra-phylo-type diversity in lactobacilli and

- bifidobacteria from the honeybee gut. BMC Genomics, 16, 284. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1476-6>
- EMERY O, SCHMIDT K, ENGEL P: Immune system stimulation by the gut symbiont *Frischella perrara* in the honey bee (*Apis mellifera*). Mol Ecol 2017, 26:2576-2590.
- ENGEL P, MARTINSON VG, MORAN NA (2012) Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. Proc Natl Acad Sci USA 109:11002–11007.
- ENGEL P, MORAN NA (2013) The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. FEMS Microbiol Rev 37:699–735. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>
- ENGEL, P., KWONG, W. K., & MORAN, N. A. (2013). *Frischella perrara* gen. nov., sp. nov., a gammaproteobacterium isolated from the gut of the honeybee, *Apis mellifera*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 63, 3646–3651. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.049569-0>
- ENGEL, P. AND MORAN, N.A. (2013) The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. FEMS Microbiology Reviews, 37, 699–735.
- ENGEL, P., BARTLETT, K. D., & MORAN, N. A. (2015). The bacterium *Frischella perrara* causes scab formation in the gut of its honeybee host. mBio, 6, e00193-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.00193-15>
- ENGEL, P., STEPANAUSKAS, R., & MORAN, N. A. (2014). Hidden diversity in honey bee gut symbionts detected by single-cell genomics. PLoS Genetics, 10, e1004596. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004596>.
- FELDHAAAR, H. (2011). Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. Ecological Entomology, 36, 533–543. <https://doi.org/10.1111/een.2011.36.issue-5>
- FRANCHINI, P., FRUCIANO, C., FRICKEY, T., JONES, J. C., & MEYER, A. (2014). The gut microbial community of midas cichlid fish in repeatedly evolved limnetic-benthic species pairs. PLoS ONE, 9, e95027-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095027>.
- FORSGREN E, OLOFSSON TC, VA´SQUEZ A, FRIES I (2010) Novel lactic acid bacteria inhibiting *Paenibacillus* larvae in honey bee larvae. Apidologie 41:99–108.
- FUNDAÇÃO JOAQUIM NABUCO. Saiba quais são as características da Caatinga. <https://www.fundaj.gov.br/index.php/conselho-nacional-da-reserva-da-biosfera-da-caatinga/9193-saiba-quais-sao-as-caracteristicas-da-caatinga#> Acesso em 19.02.2021
- GALLAI, N., SALLES, J.-M., SETTELE, J., & VAISSIÈRE, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. Ecological Economics, 68, 810–821. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>
- GAO, X. et al. Chronic stress promotes colitis by disturbing the gut microbiota and triggering immune system response. Proc Natl Acad Sci USA 115, E2960–e2969, <https://doi.org/10.1073/pnas.1720696115> (2018).

- GIBSON, C. M., & HUNTER, M. S. (2010). Extraordinarily widespread and fantastically complex: Comparative biology of endosymbiotic bacterial and fungal mutualists of insects. *Ecology Letters*, 13, 223–234. <https://doi.org/10.1111/ele.2010.13.issue-2>
- GILLIAM, M. (1979) Microbiology of pollen and beebread: the yeasts. *Apidologie* 10:43–53.
- GILLIAM, M. Identification and roles of nonpathogenic microflora associated with honey bees, *FEMS Microbiol. Lett.* 1997.
- GILLIAM MZ, LORENZ BJ, RICHARDSON GV. Digestive enzymes and micro-organisms in honey bees, *Apis mellifera*: influence of streptomycin, age, season and pollen. *Microbios.* 1988; 55: 95–114. <https://doi.org/10.1007/BF02722561>
- GOMES, C. C. Inventário Florestal da Caatinga (Renascença – Cariri Paraibano). Recife, PE. Projeto Dom Helder Camara, 2010.
- GOULSON, D., NICHOLLS, E., BOTÍAS, C., & ROTHERAY, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347, 1255957. <https://doi.org/10.1126/science.1255957>.
- GRIMONT, Patrick AD; GRIMONT, Francine. The genus *Serratia*. *Annual Reviews in Microbiology*, v. 32, n. 1, p. 221-248, 1978.
- HAYDAK M, VIVINO A (1950) The changes in the thiamine, riboflavin, niacin, and pantothenic acid content in the food of female honeybees during growth with a note on the vitamin K activity of royal jelly and bee bread. *Annals of the Entomological Society of America* 43: 361–367.
- HERBERT E, SHIMANUKI H (1978) Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie* 9: 33–40.
- HILDEBRAND, F., EBERSBACH, T., NIELSEN, H. B., LI, X., SONNE, S. B., BERTALAN, M., ... LICHT, T. R. (2012). A comparative analysis of the intestinal metagenomes present in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and humans (*Homo sapiens*). *BMC Genomics*, 13, 514. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-514>
- IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite acordo de cooperação técnica MMA/IBAMA monitoramento do bioma Caatinga, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTA. IBF. Bioma Mata Atlântica. <https://www.ibflorestas.org.br/bioma-mata-atlantica> .
- ILLUMINA, I., 2013. 16S Metagenomic sequencing library preparation. Prep. 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons Illumina MiSeq Syst. 1–28.
- INMET, 2020. Meteorological Database for Teaching and Research 2019.
- ISHAK, H. D., PLOWES, R., SEN, R., KELLNER, K., MEYER, E., ESTRADA, D. A., ... Mueller, U. G. (2011). Bacterial diversity in *Solenopsis invicta* and *Solenopsis geminata* ant colonies characterized by 16S amplicon 454 pyrosequencing. *Microbial Ecology*, 61, 821–831. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9793-4>.

- JAENIKE, J., UNCKLESS, R., COCKBURN, S. N., BOELIO, L. M., & PERLMAN, S. J. (2010). Adaptation via symbiosis: Recent spread of a *Drosophila* defensive symbiont. *Science*, 329, 212–215. <https://doi.org/10.1126/science.1188235>.
- JEYAPRAKASH, A., HOY, M. A., & ALLSOPP, M. H. (2003). Bacterial diversity in worker adults of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera scutellata* (Insecta: Hymenoptera) assessed using 16S rRNA sequences. *Journal of Invertebrate Pathology*, 84, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2003.08.007>.
- JONES, Julia C. et al. Gut microbiota composition is associated with environmental landscape in honey bees. *Ecology and evolution*, v. 8, n. 1, p. 441–451, 2018.
- KAPHEIM, K. M. et al. Caste-specific differences in hindgut microbial communities of honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 10, e0123911 (2015).
- KEŠNEROVÁ, L., MORITZ, R., & ENGEL, P. (2016). *Bartonella apis* sp. nov., a honey bee gut symbiont of the class Alphaproteobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66, 414–421. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000736>.
- KESNEROVA L, MARS RAT, ELLEGAARD KM, TROILO M, SAUER U, ENGEL P (2017) Disentangling metabolic functions of bacteria in the honey bee gut. *PLoS Biol* 15(12): e2003467. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003467>
- KWONG WK, MANCENIDO AL, MORAN NA: Immune system stimulation by the native gut microbiota in honey bees. *R Soc Open Sci* 2017, 4:170003.
- KWONG, W.K., MEDINA, L.A., KOCH, H., SING, K.-W., SOH, E.J.Y., ASCHER, J.S., et al. (2017) Dynamic microbiome evolution in social bees. *Sci Adv* 3: e1600513.
- KWONG WK, MORAN N. A. Cultivation and characterization of the gut symbionts of honey bees and bumble bees: description of *Snodgrassella alvi* gen. nov., sp. nov., a member of the family Neisseriaceae of the Betaproteobacteria, and *Gilliamella apicola* gen. nov., sp. nov., a member of Orbaceae fam. nov., Orbales ord. nov., a sister taxon to the order 'Enterobacteriales' of the Gammaproteobacteria. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2013; 63(6): 2008–18. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.044875-0>.
- KWONG, W. K., ENGEL, P., KOCH, H., & MORAN, N. A. (2014). Genomics and host specialization of honey bee and bumble bee gut symbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 11509–11514. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405838111>.
- KWONG, W. K., & MORAN, N. A. (2016). Gut microbial communities of social bees. *Nature Reviews. Microbiology*, 14, 374–384. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.43>.
- KWONG, W. K.; MORAN, N. A. *Apibacter adventoris* gen. nov., sp. nov., a member of the phylum Bacteroidetes isolated from honey bees. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 1323–1329, 2016.
- KOCH H, SCHMID-HEMPEL P (2011a) Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:19288–19292. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110474108>.
- KOCH, H., & SCHMID-HEMPEL, P. (2011b). Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences*

of the United States of America, 108, 19288–19292. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110474108>.

KOCH H, SCHMID-HEMPEL P (2011) Bacterial communities in central European bumblebees: low diversity and high specificity. *Microb Ecol* 62:121–133.

LEE, F. J., RUSCH, D. B., STEWART, F. J., MATTILA, H. R., & NEWTON, I. L. G. (2015). Saccharide breakdown and fermentation by the honey bee gut microbiome. *Environmental Microbiology*, 17, 796–815. <https://doi.org/10.1111/emi.2015.17.issue-3>.

LEY, R. E., LOZUPONE, C. A., HAMADY, M., KNIGHT, R. & GORDON, J. I. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* 6, 776–788 (2008).

LI, L. *et al.* *Bombella intestini* gen. nov., sp. nov., na acetic acid bacterium isolated from bumble bee crop. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65, 267–273 (2015).

LI, J.H., EVANS, J.D., LI, W.F., ZHAO, Y.Z., DEGRANDI-HOFFMAN, G., HUANG, S.K., et al. (2017) New evidence showing that the destruction of gut bacteria by antibiotic treatment could increase the honey bee's vulnerability to *Nosema* infection. *PLoS ONE* 12: e0187505.

LIM, H. C., CHU, C. C., SEUFFERHELD, M. J. & CAMERON, S. A. (2015). Deep sequencing and ecological characterization of gut microbial communities of diverse bumble bee species. *PLoS One* 10, e0118566.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*, Vol 01. Nova Odessa, SP. 4ed. Instituto Planatarum, 2002.

LUDVIGSEN J, RANGBERG A, AVERSHINA E, SEKELJA M, KREIBICH C, AMDAM G, RUDI K: Shifts in the midgut/pyloric microbiota composition within a honey bee apiary throughout a season. *Microbes Environ* 2015, 30:235-244.

MAES PW, RODRIGUES PA, OLIVER R, MOTT BM, ANDERSON KE: Dietrelated gut bacterial dysbiosis correlates with impaired development, increased mortality and *Nosema* disease in the honeybee (*Apis mellifera*). *Mol Ecol* 2016, 25:5439-5450.

MANDAL, S., VAN TREUREN, W., WHITE, R.A., EGGESBØ, M., KNIGHT, R., PEDDADA, S.D., 2015. Analysis of composition of microbiomes: a novel method for studying microbial composition. *Microb. Ecol. Health Dis.* 26, 27663. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.27663>

MARTINSON, V.G., DANFORTH, B.N., MINCKLEY, R.L., RUEPPELL, O., TINGEK, S. AND MORAN, N.A. (2011) A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. *Molecular Ecology*, 20, 619–628.

MARTINSON VG, MOY J, MORAN NA (2012) Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honey bee worker. *Appl Environ Microbiol* 78: 2830–2840

MCKINSTRY M, CHUNG C, TRUONG H, JOHNSTON BA, SNOW JW: The heat shock response and humoral immune response are mutually antagonistic in honey bees. *Sci Rep* 2017, 7:8850.

- MOHR, K. I., & TEBBE, C. C. (2006). Diversity and phylotype consistency of bacteria in the guts of three bee species (Apoidea) at an oilseed rape field. *Environmental Microbiology*, 8, 258–272. <https://doi.org/10.1111/emi.2006.8.issue-2>
- MOHR, K. I. & TEBBE, C. C. Field study results on the probability and risk of a horizontal gene transfer from transgenic herbicide-resistant oilseed rape pollen to gut bacteria of bees. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75, 573–582 (2007).
- MORAES, D. In vivo. FIOCRUZ. Bioma Caatinga, 2016. Disponível em: <<http://www.invivo.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=962&sid=2>>. Acesso em: 08 dez. 2020.
- MORAN, N.A., HANSEN, A.K., POWELL, J.E. AND SABREE, Z.L. (2012) Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. *PLoS ONE*, 7, e36393.
- MORAN NA. Genomics of the honey bee microbiome. *Curr Opin Insect Sci.* 2015; 10: 22–8. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.04.003> PMID: 26140264.
- MORAN, N. A., MCCUTCHEON, J. P., & NAKABACHI, A. (2008). Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. *Annual Review of Genetics*, 42, 165–190. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110>
- MORAN, N. A., HANSEN, A. K., POWELL, J. E., & SABREE, Z. L. (2012). Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. *PLoS ONE*, 7, e36393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036393>
- MOYA, A., PERETÓ, J., GIL, R., & LATORRE, A. (2008). Learning how to live together: Genomic insights into prokaryote-animal symbioses. *Nature Reviews Genetics*, 9, 218–229. <https://doi.org/10.1038/nrg2319>
- NURIT, K.; AGRA, M. de F.; BASÍLIO, I. J. D.; BARACHO, G. S. Flora da Paraíba, Brasil: Loganiaceae. *Acta bot. Bras.* v 19, n.2, abr/jun, 2005.
- OLOFSSON, TC; VASQUEZ, A. Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *Current Microbiology*, 2008, v.57, p.356–363.
- OLLERTON, J., WINFREE, R., & TARRANT, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120, 321–326. <https://doi.org/10.1111/more.2010.120.issue-3>
- POWELL, J.E., MARTINSON, V.G., URBAN-MEAD, K. AND MORAN, N.A. (2014) Routes of acquisition of the gut microbiota of the honey bee *Apis mellifera*. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 7378–7387.
- PRADO, D. As Caatingas da América do Sul. In: Leal, I. R.; Tabarelli, M.; Silva, J. M. C. (Eds.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Recife: Editora Universitária: Universidade Federal de Pernambuco, 2003.
- QUEIROZ, M. A. Recursos Genéticos Vegetais da Caatinga para o Desenvolvimento do Semiárido Brasileiro. *Revista Brasileira de Geografia Física*, 6, 1135-1150, 2011. Disponível em: <http://www.revista.ufpe.br/rbgfe/index.php/revista/article/view/273/223>.

- RAYMANN, K., SHAFFER, Z., AND MORAN, N.A. (2017) Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and elevates mortality in honeybees. *PLoS Biol* 15: e2001861.
- RAYMANN, K. AND MORAN, N.A. (2018) The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. *Current Opinion in Insect Science*, 26, 97–104.
- RIPLEY, B.D., 2001. The R project in statistical computing. *MSOR Connect.* 23–25. <https://doi.org/10.11120/msor.2001.01010023>.
- ROMERO, S. et al. The honey bee gut microbiota: strategies for study and characterization. *Insect molecular biology*, v. 28, n. 4, p. 455-472, 2019.
- ROSENGAUS, R. B., ZECHER, C. N., SCHULTHEIS, K. F., BRUCKER, R. M., & BORDENSTEIN, S. R. (2011). Disruption of the termite gut microbiota and its prolonged consequences for fitness. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 4303–4312. <https://doi.org/10.1128/AEM.01886-10>
- SABREE, Z. L., HANSEN, A. K., & MORAN, N. A. (2012). Independent studies using deep sequencing resolve the same set of core bacterial species dominating gut communities of honey bees. *PLoS ONE*, 7, e41250. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041250>
- SAMPSON, T.R., DEBELIUS, J.W., THRON, T., JANSSEN, S., SHASTRI, G.G., ILHAN, Z.E., CHALLIS, C., SCHRETTTER, C.E., ROCHA, S., GRADINARU, V., CHESSELET, M.-F., KESHAVARZIAN, A., SHANNON, K.M., KRAJMALNIK-BROWN, R., WITTUNG-STAFSHEDE, P., KNIGHT, R., MAZMANIAN, S.K., 2016. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson’s Disease. *Cell* 167, 1469-1480.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.018>
- SCARDOVI, V., & TROVATELLI, L. D. (1969). New species of bifidobacteria from *Apis mellifica* L. and *Apis indica* F. A contribution to the taxonomy and biochemistry of the genus *Bifidobacterium*. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene*, 123, 64–88.
- SCHWARZ RS, MORAN NA, EVANS JD: Early gut colonizers shape parasite susceptibility and microbiota composition in honey bee workers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016, 113:9345-9350.
- SCHLOISSNIG, S. et al. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *Nature* 493, 45–50 (2013).
- SHADE, A. & HANDELSMAN, J. Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome. *Environ. Microbiol.* 14, 4–12, <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02585.x> (2012).
- SHAPIRA, M. Gut Microbiotas and Host Evolution: Scaling Up Symbiosis. *Trends Ecol. Evol.* 31, 539–549, <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.03.006> (2016).
- SHAPIRO, B. J. & POLZ, M. F. Ordering microbial diversity into ecologically and genetically cohesive units. *Trends Microbiol.* 22, 235–247 (2014).
- SMITH, C. C., SNOWBERG, L. K., GREGORY CAPORASO, J., KNIGHT, R. & BOLNICK, D. I. Dietary input of microbes and host genetic variation shape among-

population differences in stickleback gut microbiota. *ISME J* 9, 2515–2526, <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.64> (2015).

SILVA, C. M., SILVA, C. I., HRNCIR, M., QUIROZ, R. T., IMPERATRIZ, V.L., Guia de Plantas Visitadas por Abelhas na Caatinga. 1º ed. Fortaleza, CE: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012.

SILVA, R. A. da. Caracterização da flora apícola e do mel produzido por *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) no estado da Paraíba. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Centro de Ciencias Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2006, 99f.:

SILVA, R. A. da. Plantas Apícolas da Paraíba. João Pessoa: SEBRAE/PB, 2010.

STANDIFER L, MCCAUGHEY W, DIXON S, GILLIAM M (1980) Biochemistry and microbiology of pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from almond, *Prunus dulcis*. II Protein, amino acids, and enzymes. *Apidologie* 11: 163–171.

TAMARIT, D. et al. Functionally structured genomes in *Lactobacillus kunkeei* colonizing the honey crop and food products of honeybees and stingless bees. *Genome Biol. Evol.* 7, 1455–1473 (2015).

TARPY, D. R., MATTILA, H. R. & NEWTON, I. L. Development of the honey bee gut microbiome throughout the queen-rearing process. *Appl. Environ. Microbiol.* 81, 3182–3191 (2015).

VASQUEZ, A; OLOFSSON, TC; SAMMATARO, D; HARTFELDER, K. A scientific note on the lactic acid bacterial flora in honeybees in the USA: a comparison with bees from Sweden. *Apidologie*, 2009, v.40, p.26–28.

VASQUEZ A, OLOFSSON TC (2009) The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *Journal of Apicultural Research* 48:189–195.

VOJVODIC, S., REHAN, S. M. & ANDERSON, K. E. Microbial gut diversity of Africanized and European honey bee larval instars. *PLoS ONE* 8, e72106 (2013).

YUN, J. H., ROH, S. W., WHON, T. W., JUNG, M. J., KIM, M. S., PARK, D. S., ... BAE, J. W. (2014). Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 5254–5264. <https://doi.org/10.1128/AEM.01226-14>.

ZHENG H, STEELE MI, LEONARD SP, MOTTA EVS, MORAN NA. Honey bees as models for gut microbiota research. *Lab Anim.* 2018; 47(11): 317–25. <https://doi.org/10.1038/s41684-018-0173-x>.