



## A diversidade genética em populações de abelhas *Exomalopsis analis* polinizadoras de cultivos baseados em agroecologia

*The genetic diversity of bee *Exomalopsis analis* pollinating populations of agroecology-based crops*

MOURA, Maria<sup>1</sup>; ASSUNÇÃO, Rafaela<sup>2</sup>; QUEIROZ, Heitor<sup>3</sup>; LACERDA, João<sup>4</sup>; TOGNI, Pedro<sup>5</sup>; SUJII, Patricia<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>UDF, [mariamoura.biology@gmail.com](mailto:mariamoura.biology@gmail.com); <sup>2</sup>UnB, [rafaela12assuncao@gmail.com](mailto:rafaela12assuncao@gmail.com); <sup>3</sup>UnB, [heitor.augusto1337@gmail.com](mailto:heitor.augusto1337@gmail.com); <sup>4</sup>UnB, [joaoguilherme.costa.bio@gmail.com](mailto:joaoguilherme.costa.bio@gmail.com); <sup>5</sup>UnB, [pedrotogni@unb.br](mailto:pedrotogni@unb.br); <sup>6</sup>UDF, [patricia.suji@udf.edu.br](mailto:patricia.suji@udf.edu.br).

### RESUMO EXPANDIDO

#### Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas

**Resumo:** O serviço ecossistêmico de polinização, essencial para o cultivo de plantas, é feito em grande parte por abelhas. A espécie *Exomalopsis analis* é uma abelha nativa do Cerrado e abundante em agroecossistemas. A estrutura da paisagem pode oferecer elementos que interferem no desempenho da integração genética entre populações. Portanto, este estudo tem como objetivo avaliar a diversidade genética de abelhas da espécie *E. analis* em áreas produtoras de tomate orgânico no Distrito Federal para investigar a conectividade entre populações. Permitindo futuramente compreender como o contexto da paisagem pode ser manejado entre produtores e regiões produtoras para promover o fluxo gênico entre essas populações. Para esse fim, selecionamos propriedades de cultivos orgânicos distribuídas em diferentes núcleos rurais do Distrito Federal. Foram amostradas por coleta ativa 55 abelhas do gênero *Exomalopsis*. Essas amostras foram armazenadas, identificadas e posteriormente usadas para testagem de dois protocolos de extração de DNA genômico visando a comparação entre os métodos. No processo seguinte, realizou-se PCR com primers de RAPD usados para definir a similaridade entre as amostras, constatando que há fluxo de indivíduos entre as áreas produtoras da região.

**Palavras-chave:** fluxo gênico; RAPD; serviços ecossistêmicos; *exomalopsis analis*; genética da paisagem.

#### Introdução

Cultivos orgânicos que utilizam os princípios agroecológicos para o manejo das lavouras, fazem parte das estratégias de produção de alimentos mais sustentáveis com capacidade de proporcionar segurança alimentar demandando menos alterações no ambiente (KERR et al., 2023). Os produtores rurais que utilizam esse sistema de cultivo, podem ser elementos fundamentais no favorecimento de serviços ecossistêmicos providos pela biodiversidade. Conhecer e utilizar esses serviços para a produção de alimentos tem o potencial de permitir um aumento da produtividade, compatível com a conservação da biodiversidade local (TOGNI et al., 2019).



Os insetos desempenham um importante papel quanto à provisão de serviços ecossistêmicos, pois são os organismos mais abundantes e diversos do planeta (NORIEGA et al., 2018). Cerca de 76% das plantas cultivadas ou silvestres utilizadas para consumo humano dependem, em alguma medida, da polinização por animais, principalmente das abelhas (BPBES/REBIP, 2019). Dessa forma, investigar formas de manejar as espécies que são provedoras deste serviço é fundamental para a conservação de espécies ao longo do tempo de forma sustentável.

A influência da paisagem em populações de abelhas da região tropical foi pouco investigada, apesar de ser o principal reservatório de abelhas silvestres para diversos cultivos agrícolas, como o tomate (FRANCESCHINELLI et al., 2017). A abelha *Exomalopsis analis* (Hymenoptera: Apidae) é uma espécie nativa do Cerrado, abundante em agroecossistemas diversos que se destaca por polinizar culturas como o tomateiro (FRANCESCHINELLI et al., 2017; BARBOSA et al., 2019). Contudo, apesar da reconhecida importância, pouco se conhece da diversidade genética populacional de *E. analis*.

Com o desenvolvimento no campo de estudo da genética de populações, essa área passou a exercer papel fundamental na conservação e no entendimento de dinâmicas espaciais de populações (FALEIRO, 2007; ALLENDORF, 2017). Os marcadores moleculares do tipo *Random Amplification of Polymorphic DNA* (RAPD) consistem em amplificar partes do DNA modelo com primers de sequência aleatória (GARRIDO et al. 2017). Neste trabalho, o RAPD foi a técnica escolhida pelo seu baixo custo e viabilidade de se trabalhar com pequenas quantidades de DNA sem a necessidade de amplo conhecimento sobre a sequência analisada (FALEIRO, 2007).

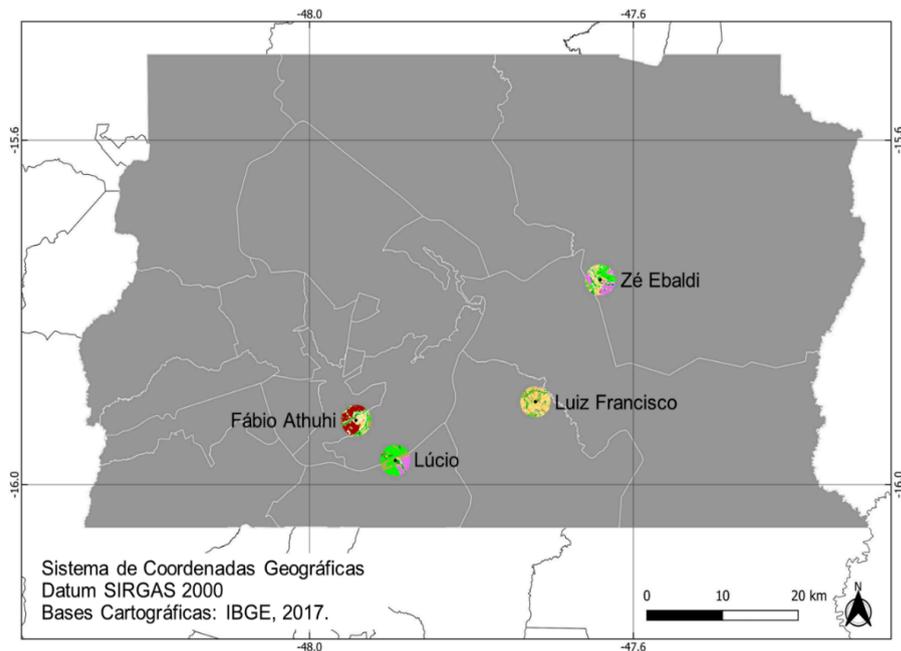
Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo avaliar a diversidade genética de abelhas da espécie *E. analis* e investigar a conectividade entre populações em áreas de produtores de tomate orgânico no Distrito Federal. Para isso, foi necessário testar e comparar o protocolo de extração de DNA adaptado de Inglis et al. (2018) ao kit comercial QIAGEN, e posteriormente, selecionar indivíduos para desenvolvimento de marcadores microssatélites específicos para *E. analis*, ainda faltantes em base de dados. Com esses dados, futuramente será possível contribuir para a geração de ferramentas moleculares adaptadas ao contexto tropical que possam ser utilizadas para entender a viabilidade dessas populações em longo prazo. Para isso, é necessário compreender como o contexto da paisagem pode ser manejado entre produtores e regiões produtoras para promover o fluxo gênico entre essas populações.

## Metodologia

As coletas foram realizadas em quatro propriedades rurais produtoras de tomates orgânicos do Distrito Federal (DF). Estas, foram selecionadas pelos requisitos de estarem espaçadas no mínimo 4 km entre si e por manterem vegetação natural nas proximidades das plantações (Figura 1). Todos os produtores possuíam certificação



orgânica e adotavam princípios agroecológicos para manejo de insetos como uso de policultivos, manutenção de vegetação espontânea entre as áreas cultivadas e áreas de pousio. Em 2022, de setembro a outubro, 55 abelhas do gênero *Exomalopsis* foram coletadas por coleta ativa em pote plástico no interior dos cultivos de tomate. O esforço amostral foi de 10 horas por propriedade sendo cada local visitado uma vez por semana no período da manhã. Os indivíduos foram mortos  $-20^{\circ}\text{C}$  e armazenados na mesma temperatura em tubos com álcool 70% para preservar a qualidade do DNA. Logo mais foram, triados e identificados em nível de espécie.



**Fig. 1.** Distribuição das propriedades produtoras de orgânico em campo aberto no Distrito Federal. As áreas em verde no mapa representam áreas de floresta em um raio de 2km ao redor das propriedades, enquanto áreas amarelas são áreas de vegetação savânica, áreas em roxo são de cultivo de soja e áreas em vermelho são áreas urbanas.

Dois protocolos de extração de DNA foram testados durante esse estudo. O primeiro é o protocolo adaptado de Inglis et al. (2018) originalmente desenvolvido para extração em tecidos vegetais. Por essa razão, foram efetuadas pequenas variações para adequar-se aos tecidos de insetos. O segundo método foi utilizando kit comercial DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) seguindo o protocolo sugerido pela empresa para tecidos de insetos.

De todos os indivíduos coletados, seis abelhas da espécie *E. analis* foram selecionadas para a etapa de análises moleculares considerando a integridade e pureza do DNA extraído. Foi feita a ampliação desse material por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) usando diferentes primers de RAPD. Foram utilizados dez primers para cada uma das seis amostras.



A análise dos dados gerados foi executada pelo programa R (R Core Team) utilizando os pacotes Ape (PARADIS & SCHLIEP, 2019) e Vegan (OKSANEN, 2010). Os dados foram submetidos à avaliação por índice de Jaccard com a finalidade de medir a similaridade entre as amostras. O método de agrupamento escolhido foi *neighbor-joining* capaz de organizar dados em forma de árvore representando a distância genética entre as amostras pelo comprimento de cada ramo.

## Resultados e Discussão

Quanto à identificação de espécies, das 55 amostras coletadas foi possível distinguir um indivíduo da espécie *E. fulvofasciata*, nove de *E. auropilosa* e todas as outras foram identificadas como *E. analis* (Figura 2). Todas estas são espécies ocorrentes no Cerrado (ASSUNÇÃO et al., 2022), sendo *E. analis* a mais abundante desse gênero por exibir uma boa adaptação áreas naturais e cultivadas (FRANCESCHINELLI et al., 2017; BARBOSA et al., 2019).



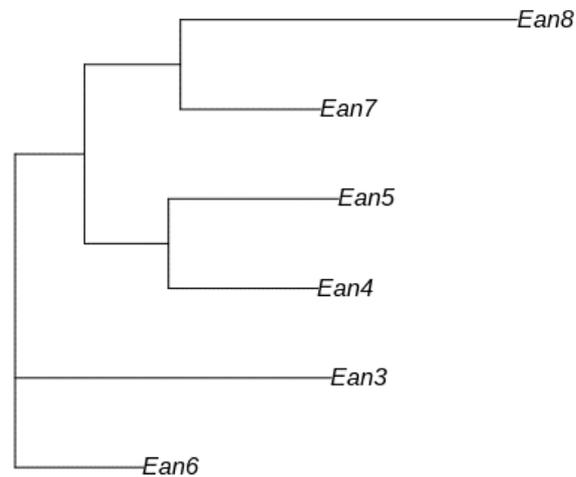
**Figura 2:** Espécies identificadas, na qual, “A” *Exomalopsis analis*, “B” *Exomalopsis fulvofasciata* e “C” *Exomalopsis auropilosa*.

A extração de DNA utilizando o protocolo de Inglis et al. (2018) teve desempenho comparável ao Kit comercial (QIAGEN) quanto à integridade e pureza do material extraído. A vantagem do uso do protocolo adaptado é preservar a qualidade da extração associado a um baixo custo por amostra. Isso pode favorecer que instituições de pesquisa brasileiras sejam capazes de realizar essas extrações a um menor custo e prestar esse serviço aos produtores de diferentes regiões.

A avaliação com RAPD se deu como uma forma economicamente viável de análise para definir quais grupos de abelhas são potencialmente mais distantes em sua genética (GARRIDO et al. 2017). Essa análise piloto melhora o refinamento da metodologia em futuros estudos desse projeto e permitirá analisar diferentes populações em regiões produtoras inseridas em diferentes tipos de paisagem e assim associar como áreas de monocultura em larga escala podem eventualmente comprometer o fluxo gênico das espécies e ameaçar a produtividade dos agricultores orgânicos e familiares de uma determinada região.



Dos dez primers, seis geraram os dados utilizados. O resultado da análise demonstra não haver diferenças significativas entre as amostras. A divergência entre os indivíduos Ean8 e Ean6 (Figura 3) se deu por um conjunto de dados faltantes. Portanto, a distância definida entre as propriedades rurais é insuficiente para apontar grandes divergências genéticas em populações de *E. analis*.



**Fig. 3.** Distância genética entres amostra.

As propriedades selecionadas para este estudo estavam localizadas em paisagens compostas majoritariamente por áreas de vegetação nativa do bioma Cerrado. Apesar da presença de grandes monoculturas ao redor de algumas, a integridade das áreas de vegetação nativa e a sua conectividade na paisagem podem ter possibilitado o fluxo gênico entre as populações amostradas neste estudo (FRANCESCHINELLI et al., 2017; ALLENDORF et al., 2017). Portanto, os produtores orgânicos da região se beneficiam da presença de fragmentos de vegetação nativa na paisagem que facilitam a dispersão das espécies entre áreas (ASSUNÇÃO et al., 2022). Ao utilizarem práticas agroecológicas em seus cultivos, os agricultores aumentam a permeabilidade do habitat (TOGNI et al., 2019), permitindo que as abelhas dispersando entre áreas na paisagem sejam capazes de colonizar os cultivos e potencialmente realizar o serviço de polinização localmente.

### Conclusões

Apesar da necessidade de refinamento, este pode ser um método para entender como as populações de insetos benéficos e provedores de serviços ecossistêmicos dispersam na paisagem e assim traçar estratégias de manejo dessas espécies. Também, atesta a necessidade de avaliação de populações mais espaçadas entre si, considerando a similaridade genética entre as abelhas analisadas. Além disso, um importante dado revelado é a eficiência do protocolo adaptado de Inglis et al. (2018) na extração de DNA de insetos. Estudos futuros devem focar em entender o contexto da paisagem de forma mais ampla e suas consequências para manter o fluxo de abelhas polinizadoras entre áreas de cultivo orgânico.



## Referências bibliográficas

- ALLENDORF, F. W. Genetics and the conservation of natural populations: allozymes to genomes. **Molecular Ecology**, v. 26, p. 420-430, 2017.
- ASSUNÇÃO, Rafaela M; CAMARGO, Nicholas F; SOUZA, Luan S; et al. Landscape conservation and local interactions with non-crop plants aid in structuring bee assemblages in organic tropical agroecosystems. **Journal of Insect Conservation**, v. 26, n. 6, p. 933–945, 2022.
- BARBOSA, Fernando; ZANUNCIO, José C.; CAMPOS, Lucio Antônio de O. Bee Community in Open-Field Tomato Crop and Pollination Effect by Wild Bees on the Fruit Production. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 6, 2019.
- BPBES/REBIPP. Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil. Wolowski M et al., eds. Plataforma Brasileira de Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos, Editora Cubo, São Carlos, 2019.
- FALEIRO, Fábio G. **Marcadores Genético-Moleculares**: aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Brasília: Embrapa, 2007.
- FRANCESCHINELLI, Edivani V.; ELIAS, Marcos A. S.; BERGAMINI, Leonardo L.; et al. Influence of landscape context on the abundance of native bee pollinators in tomato crops in Central Brazil. **Journal of Insect Conservation**, v. 21, n. 4, p. 715–726, 2017.
- GARRIDO-CARDENAS, José A.; MESA-VALLE, Concepción MANZANO-AGUGLIARO, Francisco. Trends in plant research using molecular markers. **Planta**, v. 247, n. 3, p. 543–557, 2017.
- KERR, Rachel Bezner et al. Agroecology as a transformative approach to tackle climatic, food, and ecosystemic crises. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 62, p. 101275, 2023.
- NORIEGA, Jorge A. *et al.* Research trends in ecosystem services provided by insects. **Basic and Applied Ecology**, v. 26, p. 8-23, 2018.
- OKSANEN, Jari; BLANCHET, F. Guillaume; FRIENDLY, Michael; et al. vegan: Community Ecology Package. R-Packages. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=vegan>>.
- PARADIS, Emmanuel; SCHLIEP, Klaus. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. **Bioinformatics**, v. 35, n. 3, p. 526–528, 2019.
- TOGNI, P. H. B. et al. Brazilian legislation leaning towards fast registration of biological control agents to benefit organic agriculture. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 175-185, 2019.