

Informe final publicable de proyecto

Efecto de la nutrición en la microbiota y sanidad de los abejorros nativos del género Bombus.

Código de proyecto ANII: FCE_1_2021_1_166714

Fecha de cierre de proyecto: 01/11/2024

SALVARREY MENDOZA, Sheena Marie (Responsable Técnico - Científico)

INVERNIZZI CASTILLO, Ciro (Investigador)

ANTÚNEZ CLAUSTRE, Karina (Investigador)

CASTELLI NORANDO, Loreley (Investigador)

DAVOINE, Juan Ignacio (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE CIENCIAS (Institución Proponente) \\ MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS "CLEMENTE ESTABLE" \\
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE CIENCIAS

Resumen del proyecto

Los abejorros del género *Bombus* son polinizadores clave que desempeñan un papel fundamental en la preservación de la biodiversidad y en la producción agrícola. En Uruguay, se encuentran dos especies nativas, *Bombus pauloensis* y *Bombus bellicosus*, cuyas poblaciones están amenazadas por el uso de agroquímicos, la pérdida de recursos alimenticios y una mayor susceptibilidad a patógenos. Diversos estudios han detectado la presencia de microsporidiosis, ácaros y virus ARN en las poblaciones de estos polinizadores, lo que puede afectar su salud. Sin embargo, un buen estado nutricional y una microbiota intestinal equilibrada pueden mitigar estos efectos negativos. Este estudio se realizó con el objetivo de evaluar cómo la nutrición influye en la microbiota intestinal y en la salud de *B. pauloensis* y *B. bellicosus*. Para ello, se criaron colonias de ambas especies en el laboratorio bajo dos dietas nutricionales: una basada en polen monofloral y otra en polen de diferentes especies vegetales. A través de técnicas moleculares como la secuenciación masiva y PCR en tiempo real, se determinó la microbiota intestinal y la presencia de patógenos. Los resultados indicaron que ambas dietas eran adecuadas para el desarrollo saludable de las colonias, aunque *Bombus pauloensis* mostró un mejor rendimiento, particularmente con una dieta monofloral. Se observó que el polen monofloral aumentó la riqueza de la microbiota intestinal en ambas especies, destacando la abundancia de *Gilliamella* sp. Además, en *B. bellicosus*, la microbiota intestinal variaba según la casta, siendo más diversa en las reinas que en las obreras. Se detectaron patógenos del tipo *Nosema ceranae*, únicamente en una muestra analizadas. Este estudio es el primero en abordar el impacto de la nutrición en la microbiota de abejorros sudamericanos y sugiere que la alimentación es clave para la salud de estas especies en contextos agrícolas.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Microbiota intestinal

Palabras clave: abejorros / nutrición / microbiota /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

Los abejorros del género *Bombus* son polinizadores esenciales de las zonas templadas y frías, desempeñando un rol clave en el mantenimiento de las comunidades vegetales y la biodiversidad(1). Adicionalmente, junto con otros polinizadores, contribuyen en la producción agrícola mejorando la cantidad y calidad de diversos cultivos como frutas, verduras, legumbres, y semillas(1,2). Especialmente por estas características, algunas especies de abejorros han sido criadas en cautiverio y sus colonias comercializadas. Los abejorros son insectos eusociales que poseen ciclo anual, por lo que su presencia en la naturaleza se restringe a un determinado periodo del año(3). Es por ello que la posibilidad de obtener colonias desestacionalizadas ha sido determinante en su uso como polinizadores de cultivos comerciales(4). Uruguay cuenta con la presencia de dos especies nativas, *Bombus pauloensis* y *Bombus bellicosus*(5) a partir de las cuales se ha logrado obtener colonias en el laboratorio con éxito y a nivel regional la comercialización de *B. pauloensis* ya es un hecho(6). En la actualidad estamos transitando lo que la FAO denominó como "crisis de polinizadores". Entre los principales factores que afectan a las poblaciones de polinizadores se encuentran el uso excesivo de agroquímicos, fragmentación de los hábitats, la pérdida de sitios de anidación y la poca disponibilidad de recursos alimenticios(7,8). Los abejorros, al igual que las demás especie de abejas, se alimentan exclusivamente de néctar (fuente de carbohidratos) y polen (fuente de proteínas) y para asegurar su adecuada nutrición necesitan visitar numerosos recursos florales(3). Diversos estudios han reportado que la nutrición en abejorros se relaciona directamente con la fisiología, morfología y comportamiento tanto a nivel individual como colonial. Las larvas de abejorros presentan gran demanda proteica(9). La cantidad y calidad de alimento recibida en esta etapa afecta directamente el tamaño corporal de las obreras(10). Si bien se ha comprobado que esta característica no incide en la división de tareas(11), el tamaño de las obreras afecta el comportamiento de pecoreo(12,13). Los abejorros tienen la capacidad de reconocer el valor energético del polen de las diferentes especies vegetales y variar sus preferencias florales(14–16). Por otro lado, se ha reportado que el estrés nutricional en etapas iniciales del ciclo puede tener efectos irreversibles determinado la supervivencia de la colonia(10). Específicamente en las reinas puede afectar su capacidad reproductiva ya que el correcto desarrollo de los ovarios tiene alto costo energético(15). Entre los efectos más importantes que tiene una adecuada nutrición en los abejorros está el mantenimiento de una buena condición sanitaria. En este sentido los abejorros son hospederos de diferentes grupos de parásitos, patógenos y virus, algunos específicos del género *Bombus* y otros compartidos con diferentes especies de insectos(17–20). En poblaciones locales de *B. pauloensis* se ha detectado la presencia de los virus ARN, Virus de la parálisis aguda (ABPV), Virus de las celdas reales negras (BQCV), Virus de las alas deformes (DWV) y Virus de la cría ensacada (SBV)(20). Otro grupo de patógenos importantes son los microsporidiosis de los géneros *Nosema* y *Tubilonosema*, que habían sido reportados anteriormente en *B. pauloensis* y *B. bellicosus*(20–22). Especialmente la infección de éstos patógenos tiene una estrecha relación con el estado nutricional de sus hospederos ya que éstos se alojan en el intestino y entre la sintomatología que provocan se encuentran trastornos digestivos tales como, deficiencia de asimilación de nutrientes y diarreas, entre otros efectos. Estudios realizados en abejas melíferas han demostrado que un adecuado estado nutricional es clave para disminuir los daños causados por estos patógenos(23–25). En la búsqueda de posibles estrategias para mitigar la pérdida de polinizadores diversos estudios se han enfocado en profundizar en el conocimiento de la microbiota de los abejorros(26–29). Éstas bacterias intestinales simbióticas son altamente beneficiosas, por ejemplo aseguran una correcta función digestiva optimizando la asimilación de nutrientes y protegen a su hospedero contra los patógenos. Por ejemplo, las bacterias del ácido láctico forman una capa protectora en el epitelio intestinal que actúa como defensa frente a patógenos(26). También influyen en el comportamiento del hospedero, el desarrollo, la reproducción y la salud en general. La microbiota de las especies de abejorros está determinada por diversos factores como la genética, la dieta, el intercambio con otros miembros de la colonia y la adquisición de la bacterias de la reina fundadora(27,28). Los estudios realizados en la microbiota en abejorros se han centrado en especies europeas, norteamericanas y asiáticas(26–28), especialmente en *Bombus terrestris* (especie mayormente comercializada e introducida en varios países). En ellos se evidencia que las diferentes especies de abejorros poseen microbiotas diferentes, las cuales varían en composición y riqueza de las bacterias que la componen. Se han detectados tres grandes grupos centrales: *Gilliamella*, *Snodgrassella* y *Lactobacillus*(28,29). Algunas de ellos están asociadas a la resistencia frente a patógenos, tal es el caso de *Snodgrassella* que se asocia negativamente con la presencia de *Chritidia bombi* (patógeno intestinal) y con la infección de *Nosema bombi*(26). Esta bacteria actúa formando una pared a nivel del epitelio intestinal que actúa como defensa a los patógenos mencionados, preservando las funciones digestivas de los abejorros. Por otro lado, las variaciones en la composición microbiana responden a cambios fisiológicos en las diferentes castas(28,29). Los grupos centrales mencionado anteriormente son más abundante en obreras que en machos y reinas. En machos se ha visto variaciones de acuerdo a si han participado en eventos reproductivos o no(28). En reinas la microbiota ve afectada su composición a lo largo de su vida de acuerdo a eventos reproductivos (madurez sexual, oviposición) o fisiológicos (por ejemplo, asociados a la hibernación y pos-hibernación)(29).

En este proyecto se plantea profundizar en el rol de la nutrición en la microbiota y en la sanidad de *B. pauloensis* y *B. bellicosus*. Los resultados que se obtengan permitirán establecer como el deterioro en la nutrición proteica (por ej. Ante la pérdida de ofertas florales) puede afectar a las poblaciones de abejorros. En este sentido, cabe destacar que *B. bellicosus* se encuentra dentro de la lista de las especies en riesgo de extinción y hasta el momento, las causas de esta situación han sido poco estudiadas(30,31).

El objetivo general de este proyecto es determinar cómo la nutrición (polen mono y polifloral) afectan la composición de la microbiota intestinal y la salud de los abejorros *Bombus pauloensis* y *Bombus bellicosus*, en diferentes castas y condiciones de cría.

Metodología/Diseño del estudio

Describir y justificar la estrategia o metodología seleccionada para alcanzar los objetivos específicos. Brindar detalles que permitan valorar si el abordaje propuesto es adecuado (ejemplo, estrategia de muestreo; tamaño muestral; validación previa de herramientas a utilizar; análisis estadístico a emplear). En este estudio se plantea estudiar el efecto de la nutrición en la composición de la microbiota y en la salud de los abejorros. Para ello se analizarán obreras obtenidas mediante cría artificial alimentadas con polen monofloral (de *Eucalyptus grandis*) y polifloral. Los resultados se compararán con los obtenidos de reinas fecundadas al salir de la hibernación y obreras colectadas en el campo. A comienzos de la primavera se colectarán no menos de 60 reinas de abejorros al salir de la hibernación. Cinco reinas de cada especie serán conservadas a -20°C hasta su posterior análisis. Las restantes reinas se utilizarán para desarrollar colonias de abejorros en la Sección Etología de la Facultad de Ciencias. Al final del verano se colectarán en la misma zona 10 abejorros de ambas especies y se conservarán (-20°C) y posteriormente se analizarán. Las reinas colectadas en el campo (no menos de 30 de cada especie) se criarán en laboratorio siguiendo la técnica descrita por Salvarrey et al. (2013)(6).

Las reinas se colocarán dentro de cajas de madera con paredes de vidrio de 5x10x10cm con una masa de polen (1cm diámetro) y jarabe de azúcar (1:1, peso:volumen). Cuando aparezcan los "bolsillos" (reservorio alimentación de larvas) serán llenados de una pasta de polen y jarabe de azúcar. Los individuos que emerjan serán identificados. Cuando la colonia tenga en torno a 7 obreras se traspasarán a una caja más grande de 30x25x15 diseñadas para albergar una colonia de abejorros y que cuenta con un dispensador de jarabe interno. Las colonias se criarán bajo dos regímenes alimenticios: un grupo con polen monofloral (*E. grandis*) y el otro con polen polifloral. El polen de *Eucalyptus* spp. se seleccionó como polen de bajo valor nutricional ya que estudios previos han mostrado que posee bajo porcentaje de proteína, bajo contenido de lípidos, de ácidos grasos omega3 y deficiencia en iso-leucina(24,34–36,41). Adicionalmente, se ha constatado que los abejorros en sus viajes de pecoreo poseen una gran preferencia por *E. grandis*(42). Cuando las colonias comiencen el desarrollo, se extraerán 3 individuos que tengan 7

días de edad de 10 colonias de cada especie, junto a las reinas y se mantendrán -20°C hasta su posterior análisis. Durante la cría en cautiverio se registrará el consumo de jarabe y polen consumido por cada colonia. También se evaluará el número de oviposiciones por parte de la reina y el desarrollo de las colonias. Por otro lado, al finalizar la etapa de cría, se determinará el tamaño de las obreras y el peso de las mismas. La actividad de cría en cautiverio finaliza por un lado cuando la colonia llega a una población de 40 obreras, lo que garantiza la supervivencia en el campo alimentándose por sí misma. El polen monofloral que recibirán la mitad de las colonias de *B. atratus* y *B. bellicosus* se obtendrá en otoño colectando el polen corbicular de abejas melíferas de colmenas trasladadas a forestaciones de esta especie de eucalipto. El polen polifloral se obtendrá en primavera colectando el polen corbicular de abejas melíferas de colmenas emplazadas en diferentes lugares los que luego serán mezclados. Ambos tipos de pólenes serán aportados por apicultores a los que se les darán trampas caza polen de piquera.

Con el fin de confirmar el origen botánico de los diferentes pólenes, se realizará un análisis palinológico. Mediante microscopía óptica (400X) se identificarán al menos 1200 granos de polen de cada muestra mediante la comparación con una colección de referencia. El porcentaje de cada especie botánica se calculará en relación al total de granos de polen identificados(43).

Se determinará también el porcentaje de proteínas de ambos tipos de pólenes mediante el método de digestión ácida de Kjeldahl(36) en el laboratorio de Nutrición Animal de INIA-La Estanzuela. Para evitar la transmisión de microorganismos, el polen será irradiado en el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (33 kGy). Posteriormente se mezclará con jarabe de sacarosa al 50% para preparar una masa homogénea (proporción 15:1 polen - jarabe), la cual será administrada diariamente a los abejorros.

Los individuos se esterilizarán superficialmente mediante inmersión en una solución de hipoclorito 1% durante tres minutos y posterior enjuague con agua destilada(38). Posteriormente se extraerá el intestino de cada individuo utilizando una pinza estéril. En el caso de las obreras se juntarán en una sola muestra los tres intestinos extraídos. Se realizará la extracción de ADN de acuerdo al protocolo recomendado por Zhou et al. (1996)(44). El ADN obtenido se cuantificará en NanoDrop y las muestras se estandarizarán a una concentración de 10 ng/μl. Una alícuota del ADN total obtenido se enviará a University of Minnesota Genomics Centre (UMGC), donde se realizará la secuenciación de la región V3-V4 del ARNr16S empleando la

Posteriormente se realizará el análisis bioinformático de las secuencias obtenidas empleando el software QIIME II(38), y las recomendaciones realizadas por Engel et al. (2013)(23,25,37).

Una alícuota del ADN obtenido de cada individuo se empleará para detectar la presencia de los patógenos *Nosema ceranae*, *Nosema apis* y *Lotmaria passim*, mediante PCR empleando primers específicos para la detección de estos patógenos(23,25,45,46). Nutrición y desarrollo de las colonias: La comparación entre grupos y entre especies se realizarán aplicando métodos de Chi-cuadrado y de análisis de varianzas de acuerdo a las naturaleza de las variables medidas. La relación de las variables se determinará aplicando un modelo lineal general y en casos donde se pretenda identificar los elementos de diferenciación se aplicará modelos lineales generalizados.

Microbiota.- Se analizarán los índices de diversidad alfa (para comparar la diversidad de cada muestra) y beta (para comparar la diversidad entre muestras). A la vez se comparará la abundancia relativa de las OTUs en los distintos grupos mediante análisis exploratorios de las distancias UniFrac ponderadas. Para determinar las diferencias en composición y abundancia en la microbiota de los diferentes grupos, se emplearán los softwares DESeq2 y LEfSe.

Patógenos- Los diferentes grupos de abejorros que presenten patógenos serán analizados utilizando Chi cuadrado y los niveles de infección se contrastarán utilizando métodos no paramétricos como Kruskal- Wallis. Los análisis estadísticos se realizarán en el software R

Resultados, análisis y discusión

El estudio analizó el impacto de dos tipos de dietas de polen en el desarrollo, sanidad y microbiota de colonias de dos especies de abejorros nativos de América del Sur, *Bombus pauloensis* y *Bombus bellicosus*, criados en condiciones de laboratorio. El principal objetivo fue comprender cómo la calidad y diversidad del polen afectaban la oviposición, el desarrollo de las obreras, la salud general de las colonias y su microbiota intestinal.

Los resultados mostraron que ambas dietas fueron adecuadas para lograr la oviposición y la emergencia de obreras, con un éxito del 55%. No se encontraron diferencias significativas entre las dos especies en términos de éxito en la oviposición ($\chi^2 = 0.57$, $df = 1$, $p = 0.45$). A los 40 días de iniciada la cría, se contabilizaron y analizaron las celdas en diferentes etapas de desarrollo (huevos, larvas y pupas), así como el número de bolsillos alimenticios en cada uno de los cuatro grupos. Ninguno de estos parámetros mostró diferencias significativas entre especies o tratamientos.

En cuanto al número de obreras, la dieta no fue un factor significativo para ninguna de las especies. Sin embargo, al comparar las especies alimentadas con la misma dieta, se encontraron diferencias significativas. *B. pauloensis* produjo más obreras que *B. bellicosus* tanto con la dieta monofloral como con la polifloral ($p < 0.05$ para ambas).

El tiempo transcurrido desde la oviposición hasta la emergencia de la primera obrera fue similar entre las especies, aunque mostró una tendencia marginalmente significativa a ser menor en *B. pauloensis* alimentada con dieta monofloral. Para esta especie, el tiempo promedio de emergencia fue de 24,29 días con la dieta monofloral y 27,14 días con la dieta polifloral. En *B. bellicosus*, los tiempos fueron de 27,38 días para la dieta monofloral y 28,23 días para la polifloral. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0.05$), aunque hubo una ligera tendencia hacia un desarrollo pre-imaginal más corto en *B. pauloensis* con la dieta monofloral.

Las obreras de *B. pauloensis* alimentadas con polen monofloral alcanzaron pesos significativamente mayores ($0.15 \pm 0.05g$; $n = 104$) en comparación con aquellas alimentadas con polen polifloral ($0.12 \pm 0.04g$; $n = 139$) ($p < 0.0001$). En cambio, en *B. bellicosus*, la dieta no influyó en el peso de las obreras. Al comparar los pesos de obreras de las diferentes especies alimentadas con la dieta monofloral, las de *B. pauloensis* fueron significativamente más pesadas ($p < 0.001$). No se observaron diferencias significativas en el peso de las obreras entre las especies cuando fueron alimentadas con la dieta polifloral.

Estos resultados fueron inesperados, ya que el polen monofloral contenía menos diversidad botánica y menos nutrientes esenciales para las abejas, como lípidos y proteínas. La hipótesis inicial asumía que una dieta de menor calidad nutricional afectaría negativamente el desarrollo de las colonias, pero los datos rechazaron esta idea. Por otro lado, en *B. bellicosus*, no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros medidos entre las dietas. Esto sugiere que las dos especies tienen diferentes necesidades nutricionales y estrategias de adaptación a su entorno, siendo *B. pauloensis* más eficiente en aprovechar los recursos limitados de la dieta monofloral.

El estudio destacó que, aunque *B. pauloensis* y *B. bellicosus* se alimentaron con la misma dieta, las primeras lograron una mayor cantidad de obreras en las primeras etapas del ciclo de vida, así como un mayor peso en las obreras alimentadas con polen monofloral en comparación con *B. bellicosus*. Este hallazgo respalda la idea de que *B. pauloensis* tiene una mayor capacidad de adaptación a las condiciones nutricionales reducidas, posiblemente debido a su mayor distribución geográfica en América del Sur, lo que le habría permitido desarrollar una mayor flexibilidad en la utilización de recursos alimenticios. En cambio, *B. bellicosus*, que se encuentra en peligro de extinción y tiene una distribución más limitada, mostró una menor capacidad de respuesta a los cambios en la calidad de la dieta.

A nivel sanitario, el único patógeno detectado en las colonias fue el microsporidio *Nosema ceranae*, encontrado en una colonia de *B. pauloensis* alimentada con dieta monofloral. No se detectaron otros patógenos como *Nosema apis*, *Nosema bombi* ni *Lotmaria passim*, lo que indica un buen estado de salud en las colonias criadas en cautiverio. Las medidas de manejo, como la irradiación del polen y la limpieza constante de los residuos, pudieron haber contribuido a minimizar la presencia de enfermedades.

Respecto al impacto de las dietas en la microbiota intestinal de las colonias, se analizaron mediante secuenciación de 16S rRNA las bacterias presentes en las reinas y obreras de ambas especies, alimentadas con dietas monofloral y polifloral. Los resultados revelaron que las dietas tienen una incidencia en la composición de la microbiota. En particular, el polen monofloral aumentó la riqueza de la microbiota intestinal en ambas especies, así como la abundancia de *Gilliamella* sp.. Sin embargo, se observó que las reinas alimentadas con polen polifloral tenían una diversidad de géneros bacterianos disminuida, lo cual podría tener implicaciones para la salud y desarrollo de las colonias, aunque este hallazgo no fue corroborado con los resultados de desarrollo obtenidos en este trabajo.

Entre los géneros bacterianos más abundantes en las colonias se encontraron *Snodgrassella*, *Gilliamella*, *Bombilactobacillus* y *Bifidobacterium*, todos conocidos por su papel en la digestión y la protección de las abejas frente a patógenos. Un hallazgo interesante fue la asociación entre la microbiota intestinal y el desarrollo corporal de las obreras de *Bombus pauloensis*, donde se encontraron diferencias en el peso de las obreras. Las bacterias de los géneros *Enterobacteriaceae* y *Sphingomonas* se asociaron positivamente con un mayor peso corporal en las obreras alimentadas con polen monofloral, mientras que *Gilliamella* mostró una correlación negativa. Esto sugiere que ciertos taxones bacterianos pueden influir en la capacidad de las abejas para procesar los nutrientes de la dieta, afectando su crecimiento y desarrollo. En las reinas, la dieta polifloral y la presencia de *Lactobacillus* tuvieron una relación positiva con el peso corporal, indicando que las reinas pueden beneficiarse de una mayor diversidad y calidad nutricional en sus dietas. Solo la microbiota intestinal de las diferentes castas de *B. bellicosus* mostró diferencias, con las reinas teniendo una microbiota intestinal más diversa que las obreras.

Estos resultados sugieren que la nutrición influye en la abundancia de componentes clave de la microbiota intestinal en *B. pauloensis* y *B. bellicosus*. Esto contribuye a la comprensión de la influencia de la intensificación agrícola en la salud de *Bombus* spp. y cómo estas especies pueden adaptarse a diferentes condiciones ambientales. Además, estos hallazgos enfatizan la importancia de utilizar una amplia variedad de especies como modelo para entender el impacto de la nutrición en el desarrollo y la salud de las colonias del género.

Conclusiones y recomendaciones

Este estudio proporciona información valiosa sobre el impacto de las dietas de polen en el desarrollo, salud y microbiota de colonias de *Bombus pauloensis* y *Bombus bellicosus*, nativas de

América del Sur. A pesar de que ambas dietas (monofloral y polifloral) fueron adecuadas para la oviposición y la emergencia de obreras, los resultados revelaron diferencias significativas entre las especies en términos de rendimiento, con *B. pauloensis* mostrando una mayor capacidad para producir obreras y alcanzar pesos superiores bajo la dieta monofloral. Estos hallazgos sugieren que *B. pauloensis* es más adaptable a condiciones nutricionales limitadas, lo que podría ser una ventaja evolutiva, dado su rango geográfico más amplio.

La investigación también destacó la importancia de la microbiota intestinal, indicando que la calidad y diversidad de la dieta influyen en la composición bacteriana de las colonias. Mientras que una dieta polifloral promovió una mayor diversidad bacteriana en las obreras, la disminución de la diversidad en las reinas alimentadas con polen polifloral plantea interrogantes sobre la salud reproductiva de las colonias. La presencia del patógeno *Nosema ceranae* en *B. pauloensis* y la ausencia de otros patógenos reflejan un estado general de salud positivo, pero subrayan la necesidad de un manejo cuidadoso en condiciones de cría.

Los resultados del estudio contribuyen a la comprensión de los requerimientos nutricionales específicos de cada especie de abejorro, lo cual es fundamental para optimizar su uso en programas de polinización comercial y en estrategias de conservación. Dada la crisis de los polinizadores, es esencial diseñar paisajes agrícolas que no solo aumenten la diversidad de plantas, sino que también garanticen la calidad nutricional de los recursos florales.

Finalmente, este trabajo resalta la relevancia de realizar estudios adicionales sobre la biología nutricional de *B. bellicosus*, una especie en peligro de extinción y con una distribución geográfica limitada, para identificar sus necesidades específicas y mejorar su manejo en cautiverio. La información obtenida tiene implicaciones significativas para el desarrollo de prácticas de conservación y la sostenibilidad de la polinización en entornos agrícolas, asegurando así la preservación de estas especies vitales para los ecosistemas.

Productos derivados del proyecto

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
Tesis de grado/monografías	DESARROLLO DE COLONIAS DE ABEJORROS BOMBUS PAULOENSIS Y BOMBUS BELLICOSUS (HYMENOPTERA:APIDAE) BAJO DOS DIETAS DE POLEN	Juan Ignacio Davoine	https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/4905/browse?type=author&order=ASC&rpp=20&offset=840	https://hdl.handle.net/20.500.12008/48017	Finalizado
Póster	Effect of diet and caste on the gut microbiota of Bombus pauloensis and Bombus bellicosus	Castelli L., Antúnez K., Davoine, I.,Invernizzi C. & Salvarrey S.		https://hdl.handle.net/20.500.12381/3851	Finalizado
Resumen de conferencia publicado	Development of bumblebee colonies of Bombus bellicosus and Bombus pauloensis under two nutritional diets	Juan Ignacio Davoine, Yulai Ramos, Ciro Invernizzi, Sheena Salvarrey		https://hdl.handle.net/20.500.12381/3852	Finalizado

Referencias bibliográficas

1.Klein, A.M. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 274, 303–313 (2007).

2.Aizen, M.A. et al. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. Ann. Bot. 103, 1579–1588 (2009).

3.Michener, C.D. The Bees of the World. (2007).

4.Velthuis, HHW & Van Doorn, A.A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. Apidologie 37, 421–451 (2006).

5.Santos, E., Arbulo, N., Salvarrey, S. & Invernizzi, C. Distribución de las especies del género Bombus Latreille (Hymenoptera, Apidae) en Uruguay. Rev. la Soc. Entomológica Argentina 76, 22–27 (2017).

6.Salvarrey, S., Arbulo, N., Santos, E. & Invernizzi, C. Cría artificial de abejorros nativos Bombus atratus y Bombus bellicosus (Hymenoptera, Apidae). Agrociencia Uruguay 17, 75–82 (2013).

7.Lautenbach, S., Seppelt, R., Liebscher, J. & Dormann, C.F. Spatial and temporal trends of global pollination benefit. PLoS One 7, (2012).

FCE_1_2021_1_166714 (Terminado) - 106540 29/09/22 21:43:01 Página 14/32

FCE_1_2021_1_166714

Proyecto de investigación Fundamental Fondo Clemente Estable - 2021

8.FAO 2018. Observance, F. & Day, W.B.rtemaseWhybe. (2018).

9.Sakagami, S.F. Specific differences in the bionomic characters of bumblebees a comparative review. Jour. Fac. Sct. Hokkaido Univ. Ser. VI 20 (3), 390–447 (1976).

10.Rotheray, E.L., Osborne, J.L. & Goulson, D. Quantifying the food requirements and effects of food stress on bumble bee colony development. J. Apic. Res. 56, 288–299 (2017).

11.Jandt, J.M. & Dornhaus, A. Bumblebee response thresholds and body size: Does worker diversity increase colony performance? Anim. Behav. 87, 97–106 (2014).

12.Arbulo, N., Santos, E., Salvarrey, S. & Invernizzi, C. Proboscis Length and Resource Utilization in Two Uruguayan Bumblebees: Bombus atratus Franklin and Bombus bellicosus Smith (Hymenoptera: Apidae). Neotrop. Entomol. 40, 72–77 (2011).

13.Somme, L. et al. Pollen and nectar quality drive the major and minor floral choices of bumble bees. Apidologie 46, 92–106 (2015).

14.Leonhardt, S. & Blüthgen, N. The same, but different: pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. Apidogie 43, 449–464 (2012).

15.Vanderplanck, M. et al. How does pollen chemistry impact development and feeding behaviour of polylectic bees? PLoS One 9, 1–9 (2014).

16.Kriesell, L., Hilpert, A. & Leonhardt, S.D. Different but the same: bumblebee species collect pollen of different plant sources but similar amino acid profiles. Apidologie 48, 102–116 (2017).

17.Daszak, P. et al. Emerging Infectious Diseases of Wildlife- Threats to Biodiversity and Human Health. 287, 443–449 (2000).

18.Manley, R. et al. Knock-on community impacts of a novel vector: spillover of emerging DWV-B from Varroa-infested honeybees to wild bumblebees. Ecology Letters vol. 22 (2019).

19.Alger, S.A., Burnham, P.A., Boncristiani, H.F. & Brody, A. K. RNA virus spillover from managed honeybees (Apis mellifera) to wild bumblebees (Bombus spp.). PLoS One 14, e0217822 (2019).

20.Salvarrey, S. et al. Parasites and RNA viruses in wild and laboratory reared bumble bees Bombus pauloensis (Hymenoptera: Apidae) from Uruguay. PLoS One 16, 1–14 (2021).

21.Arbulo, N. et al. High prevalence and infection levels of Nosema ceranae in bumblebees Bombus atratus and Bombus bellicosus from Uruguay. J. Invertebr. Pathol. 130, 165–168 (2015).

22.Plischuk, S. et al. Pathogens, parasites, and parasitoids associated with bumble bees (Bombus spp.) from Uruguay. Apidologie 48, 298–310 (2017).

23.Castelli, L. et al. Impact of Nutritional Stress on Honeybee Gut Microbiota, Immunity, and Nosema ceranae Infection. Microb. Ecol. 80, 908–919 (2020).

24.Branchiccela, B. et al. Impact of nutritional stress on the honeybee colony health. Sci. Rep. 9, 1–11 (2019).

25.Castelli, L., Branchiccela, B., Romero, H., Zunino, P. & Antúnez, K. Seasonal Dynamics of the Honey Bee Gut Microbiota in Colonies Under Subtropical Climate: Seasonal

Dynamics of Honey Bee Gut Microbiota. Microb. Ecol. (2021) doi:10.1007/s00248-021-01756-1.

FCE_1_2021_1_166714 (Terminado) - 106540 29/09/22 21:43:01 Página 15/32

FCE_1_2021_1_166714

Proyecto de investigación Fundamental Fondo Clemente Estable - 2021

26.Koch, H. & Schmid-Hempel, P. Structural diversity and functional variability of gut microbial communities associated with honey bees. Invertebr. Microbiol. 62, 121–133 (2011).

27.Cariveau, D.P. et al. Variation in gut microbial communities and its association with pathogen infection in wild bumble bees (*Bombus*). ISME J. 8, 2369–2379 (2014).

28.Wang, L. et al. Dynamic Changes of Gut Microbial Communities of Bumble Bee Queens through Important Life Stages. mSystems 4, (2019).

29.Li, K. et al. Dynamic change of gut microbiota in the male bee of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). (2020) doi:10.21203/rs.3.rs-18724/v1.

30.Cameron, S.A. et al. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. 108, (2011).

31.Martins, A.C., Silva, D.P. & Marco, P. De. Species conservation under future climate change; the case of *Bombus bellicosus*, a potentially threatened South American bumblebee species Species conservation under future climate change; the case of *Bombus bellicosus*, a potentially threatened South . (2015)

doi:10.1007/s10841-014-9740-7.

32.Vanbergen, A.J. et al. Threats to an ecosystem service: Pressures on pollinators. Front. Ecol. Environ. 11, 251–259 (2013).

33.Manley, R., Boots, M. & Wilfert, L. Emerging viral disease risk to pollinating insects: Ecological, evolutionary and anthropogenic factors. J. Appl. Ecol. 52, 331–340 (2015).

34.Roltson T.H. & Cane, J.H. Pollen nutritional content and digestibility for animals. Plant Syst. Evol. 222, 187–209 (2000).

35.Invernizzi, C. et al. Sanitary and nutritional characterization of honeybee colonies in *Eucalyptus grandis* plantations. Arch. Zootec. 60, 1303–1314 (2011).

36.Arien, Y., Dag, A., Zarchin, S., Masci, T. & Shafir, S. Omega-3 deficiency impairs honey bee learning. Proc. Natl. Acad. Sci. 112, 15761–15766 (2015).

37.Engel et al. Standard methods for research on *Apis mellifera* gut symbionts. J. Apic. Res. 52, 1–24 (2013).

38.Caporaso, J. G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nat. Methods 7, 335–336 (2010).

39.Martín-Hernández, R. et al. Effect of temperature on the biotic potential of honeybee microsporidia. Appl. Environ. Microbiol. 75, 2554–2557 (2009).

40.Meeus, I., De Graaf, D.C., Jans, K. & Smagghe, G. Multiplex PCR detection of slowly-evolving trypanosomatids and neogregarines in bumblebees using broad-range primers. J. Appl. Microbiol. 109, 107–115 (2010).

41.Somerville, D.G. Nutritional value of bee collected pollens. Rural Industries Research and Development Corporation. (2001).

42.Salvarrey, S. Utilización de abejorros nativos como polinizadores de trébol rojo (*Trifolium pratense*) y tomate (*Solanum lycopersicum*). (Universidad de la República, 2019).

43.Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, G. Methods of Melissopalynology. Bee World 59, 139–157 (1978).

44.Zhou, J., Bruns, M.A. & Tiedje, J.M. DNA recovery from soils of diverse composition. Appl. Environ. Microbiol. 62, 316–322 (1996).

45.Castelli, L. et al. Detection of *Lotmaria passim* in Africanized and European honeybees from Uruguay, Argentina y Chile. J. Invertebr. Pathol., 160: 95–97 (2019).

46.Bartolomé et al. A new complex PCR protocol to detect mixed trypanosomatid infections in species of *Apis* and *Bombus*. J. Invertebr. Pathol., 154:37–41(2018)

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)

