

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA



“Capacidade vibratória e polinização por vibração nas abelhas do gênero *Melipona*
(Apidae, Meliponini) e *Bombus* (Apidae, Bombini)”.

Patrícia Nunes-Silva

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e
Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das
exigências para a obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área: Entomologia

RIBEIRÃO PRETO -SP
2011

VERSÃO CORRIGIDA

PATRÍCIA NUNES SILVA

“Capacidade vibratória e polinização por vibração nas abelhas do gênero *Melipona*
(Apidae, Meliponini) e *Bombus* (Apidae, Bombini)”.

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências
e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das
exigências para a obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área: Entomologia

Orientador: Profa. Dra. Vera Lucia Imperatriz Fonseca

RIBEIRÃO PRETO - SP

2011

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Nunes-Silva, Patrícia

Capacidade vibratória e polinização por vibração nas abelhas do gênero *Melipona* (Apidae, Meliponini) e *Bombus* (Apidae, Bombini), 2011. 133 p.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Entomologia.
Orientador: Imperatriz-Fonseca, Vera Lucia.

1. Polinização por vibração. 2. *Melipona*. 3. *Bombus*. 4. Forrageamento. 5. Apidae.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a). Maria José de Oliveira Campos

Prof(a). Dr(a). Astrid Matos Peixoto Kleinert

Prof(a). Dr(a). Breno Magalhães Freitas

Prof(a). Dr(a). Clemens Peter Schlindwein

Prof(a). Dr.(a). Vera Lucia Imperatriz Fonseca
Orientador(a)

Dedico este trabalho aos meus pais Francisco Afonso da Silva e Márcia Nunes Silva e a meu irmão Bruno Nunes Silva. O apoio e o amor de minha família foram essenciais para mais esses passos de minha caminhada.

Agradecimentos

À FAPESP pela bolsa de Doutorado (processo: 07/03864-5) e apoio financeiro (projeto Biota: processo 04/15801-0) para a obtenção de computador e a construção de uma casa de vegetação na FFCLRP-USP.

À CAPES pela bolsa de doutorado sanduíche (PDEE – processo BEX: 5344/09-3), que possibilitou a realização de estágio no exterior.

Ao CNPq pela bolsa nos três primeiros meses de doutorado.

À Profa. Dra. Vera Lucia Imperatriz Fonseca pela orientação, amizade, incentivo e, principalmente, por acreditar em mim. Seus conselhos me fizeram escolher os caminhos certos que possibilitaram a realização dessa tese. A amizade me forneceu apoio nos momentos difíceis, sejam eles profissionais ou pessoais. O incentivo me fez continuar. Acreditar em mim me fez enxergar que eu era capaz de realizar esse estudo, mesmo frente aos obstáculos.

Ao Dr. Michael Hrcir que, apesar de não ser co-orientador oficial dessa tese, realizou muito bem tal função. Ensinou-me muito sobre as vibrações e como analisá-las. Trabalhar com ele melhorou meu planejamento e minha execução dos experimentos, além da minha redação científica. Também foi meu amigo e companheiro de viagens durante esses quatro anos.

Ao Dr. Giorgio Venturieri pela participação no trabalho e oportunidade de realizar os experimentos na EMBRAPA Amazônia Oriental, além da hospitalidade durante a minha estadia em Belém.

Ao Dr. Peter G. Kevan pela orientação na realização dos experimentos durante o estágio de doutorando (PDEE – sanduíche) no Canadá. Também pela oportunidade de participar de coletas entomológicas na região de Churchill e York Factory (região subártica). Foram momentos inesquecíveis.

Ao Dr. Les Shipp pela orientação na realização dos experimentos e pela oportunidade de realizar os experimentos nas casas de vegetação da AAFC (Agriculture and Agri-Food Canada – Harrow, ON) durante o estágio de doutorando (PDEE - sanduíche) no Canadá. Também pela hospitalidade.

Ao Dr. Brian Husband pela utilização do contador de partículas (MultisizerT 3 COULTER COUNTER®) no Departamento de Biologia Integrativa da Universidade de Guelph.

À Sarah Baldwin por me ensinar a utilizar o contador de partículas e auxílio durante sua utilização.

Ao Prof. Dr. Paulo Eugenio Alves Macedo de Oliveira pela utilização do Laboratório de Morfologia Vegetal e Imagem (LAMOV – IB, Universidade Federal de Uberlândia) para análise de fluorescência dos pistilos das flores de beringela.

À Dra. Claudia Inês da Silva por participar desse estudo durante a análise de fluorescência e conselhos acadêmicos, mas, principalmente pela grande amizade e apoio.

Ao Dr. Bernard E. Vaissière pela oportunidade de trabalhar no laboratório de Polinização e Ecologia de Abelhas no INRA (Institut National de La Recherche Agronomique, Avignon - França) e gravar as vibrações de *Bombus terrestris* durante a polinização de tomates. Pela hospitalidade, conselhos acadêmicos e discussão dos resultados.

À equipe do laboratório de Polinização e Ecologia de Abelhas (INRA) pelo auxílio na execução dos experimentos e hospitalidade, principalmente, Céline Pleindoux e Laurent Guilbaud que possibilitaram meu transporte para a casa de vegetação e organização dos materiais utilizados.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo pela ajuda nas questões administrativas para a construção da casa de vegetação na FFCLRP-USP e pela amizade nesses anos.

À Yara Roldão pelo auxílio durante a realização dos experimentos e cuidado com as plantas. Também pela amizade.

Aos colegas atuais e antigos de laboratório, principalmente Cristiano Menezes e Ayrton Vollet que me ajudaram durante os primeiros experimentos. E também à Denise A. Alves pela amizade.

À Dra. Sídia Witter, pela oportunidade de tentar realizar experimentos no Rio Grande do Sul e pela amizade.

À Letícia A. Lopes, pela ajuda nos experimentos. Por ser companheira de laboratório, de festas e longas conversas. Obrigada pela amizade e companheirismo, mesmo quando longe.

À Juliana G. Teixeira, pela ajuda nas tentativas de realizar experimentos no Rio Grande do Sul e recente amizade.

Aos meus pais, Francisco Afonso da Silva e Márcia N. Silva, pelo amor, presença, dedicação e apoio.

Ao meu irmão Bruno N. Silva, pelo amor e apoio, e também pelo lindo design dessa tese.

Aos meus tios Pedro Nunes e Heloisa B. Nunes e aos primos Tatiana B. Nunes, Rodrigo B. Nunes e Vitor B. Nunes pelo apoio e carinho.

À Mariana T. R. Mariano, amiga de longa data, companheira de viagens e que dividiu comigo o lar e o dia-a-dia durante os anos de doutorado.

À minha amiga Cristiane Krug, companheira de disciplinas e viagens, por estar presente mesmo longe.

Aos meus amigos Léo Rocha, Gisele de C.P. Cabral e Maria Juliana Caliman pelo companheirismo e descontração nesses anos no laboratório.

Às minhas amigas Renata Arali, Juliana Macedo, Silmara Macedo e Patrícia Motta de Cruz, pelo apoio e descontração nas horas vagas. A amizade de vocês por todos esses anos tem sido muito importante.

À Márcia Berti Passetto e Milena Nobre Ramos por todos os divertidos momentos que passamos juntas e grande amizade que permanece mesmo geograficamente distante.

À Angélica Cucolo pela amizade por todos esses anos, mesmo à distância.

À Yara Roman, Raquel Guerrero e Jacqueline Gilmet, pessoas que tornaram minha estadia no Canadá mais divertida. Pela amizade.

A todos aqueles que participaram da minha vida acadêmica e pessoal nesses quatro anos.

*She's a rainbow and she loves the peaceful life
 Knows I'll go crazy if I don't go crazy tonight
There's a part of me in the chaos that's quiet
 And there's a part of you that wants me to riot*

*Everybody needs to cry or needs to spit
 Every sweet tooth needs just a little hit
 Every beauty needs to go out with an idiot
How can you stand next to the truth and not see it?*

A change of heart comes slow

***It's not a hill, it's a mountain
 As you start out the climb
 Do you believe me, or are you doubting
 We're gonna make it all the way to the light
 But I know I'll go crazy if I don't go crazy tonight***

***Every generation gets a chance to change the world
 Pity the nation that won't listen to your boys and girls
 Cos the sweetest melody is the one we haven't heard
 Is it true that perfect love drives out all fear?
 The right to appear ridiculous is something I hold dear
 Oh, but a change of heart comes slow***

*It's not a hill, it's a mountain
 As you start out the climb
 Listen for me, I'll be shouting
 We're gonna make it all the way to the light
 But you now I'll go crazy if I don't go crazy tonight*

***Baby, baby, baby, I know I'm not alone
 Baby, baby, baby, I know I'm not alone***

*It's not a hill, it's a mountain
 As we start out the climb
 Listen for me, I'll be shouting
Shouting to the darkness, squeeze out sparks of light*

*You know we'll go crazy
 You know we'll go crazy
 You know we'll go crazy if we don't go crazy tonight*

Oh oh Slowly now Oh oh

(I'll Go Crazy If I Don't Go Crazy Tonight, U2)

RESUMO

A importância da polinização para a agricultura tem sido apontada por muitos estudos e nos últimos anos grande atenção tem sido dada a esse tópico visto que a falta de polinizadores pode causar uma diminuição na produção de alimentos e um aumento na área cultivada para suprir essa diminuição. A polinização por vibração é importante para culturas agrícolas como o tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill, Solanaceae) e a beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae). Entre as espécies de abelhas sociais, além de *Bombus*, as abelhas do gênero *Melipona* realizam polinização por vibração. Considerando este tipo de polinização na agricultura brasileira, as abelhas desse gênero podem ser uma alternativa a *Bombus*. Um dos objetivos dessa tese foi verificar o potencial de *Melipona* para o uso nesse tipo de polinização, avaliando as características físicas da vibração de oito espécies desse gênero em laboratório. Também estudamos o comportamento de *Melipona fasciculata* durante a visita às flores de beringela e o de *Bombus impatiens* durante a visita às flores de tomates e de beringela, focando nas consequências do comportamento para a polinização. Como resultado, desenvolvemos uma metodologia que pode ser utilizada para prever a frequência e a velocidade das vibrações que as abelhas geram naturalmente nas flores. Verificamos que as oito espécies de *Melipona* avaliadas possuem capacidade vibratória semelhante, indicando que possuem potencial para uso na polinização por vibração na agricultura. Também verificamos que o comportamento de *M. fasciculata* influencia a polinização de beringela e varia de acordo com o tipo de flor (estilete longo e curto). Essa espécie de abelha pode ser utilizada eficientemente para a polinização dessa cultura. O estudo do comportamento de *B. impatiens* confirmou que apenas uma visita de *Bombus impatiens* às flores de tomate é necessária para garantir a produção de tomates com qualidade superior (maior peso e número de sementes) a de flores não visitadas. Além disso, mostrou que não é necessário considerar o tamanho das forrageiras utilizadas na polinização de tomate. Forrageiras com tórax mais pesado não produziram tomates com qualidade superior. Demonstramos que as forrageiras dessa espécie são capazes de detectar a quantidade de pólen disponível nas flores enquanto as visitam e como estratégia elas gastam menos tempo em flores com menos pólen disponível. Também verificamos que as forrageiras de *B. impatiens* realizaram vibrações com características físicas (frequência e velocidade) diferentes durante a polinização de espécies de plantas distintas (tomate e beringela). Comparamos a quantidade de pólen que as forrageiras de *M. fasciculata* e *B. impatiens* retiraram das flores de beringela na primeira visita e as suas vibrações e os resultados indicaram que velocidade é mais importante que a frequência na remoção de pólen das anteras. Também comparamos a vibração (frequência e velocidade) de *M. fasciculata* (em beringela), *B. impatiens* (em beringela e tomate) e *Bombus terrestris* (em tomate) durante a primeira visita às flores e concluímos que *M. fasciculata* produz vibrações que a tornam potencial polinizadora também de tomate.

Palavras-chave: polinização por vibração, *Melipona*, *Bombus*, forrageamento, Apidae.

ABSTRACT

The importance of pollination for agriculture has been pointed out by many studies and in the recent years great attention has been given to this topic because the lack of pollinators can cause a decrease in food production and an increase on the cultivated area to supply this decrease. Buzz pollination is important for agricultural crops as tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill, Solanaceae) and eggplant (*Solanum melongena* L., Solanaceae). Among social bees, besides *Bombus*, bees of the genus *Melipona* perform buzz pollination. Concerning this kind of pollination in Brazilian agriculture, therefore, bees of this genus can be an important alternative to *Bombus*. One of the aims of this thesis was to verify the potential of *Melipona* for the use in this kind of pollination, evaluating the vibration physical characteristics of eight species of this genus on laboratory. We also studied the behavior of *Melipona fasciculata* during the visit to eggplant flowers and of *Bombus impatiens* during the visit to eggplant and tomato flowers, focusing on the consequences that of behavior to pollination. As a result, we developed a methodology that can be used to predict the frequency and velocity of vibrations that be produce naturally on flowers. We verified that the eight *Melipona* species evaluated have similar vibratory capability, indicating that they present potential for buzz pollination use in agriculture. We also verified that *M. fasciculata* behavior influences eggplant pollination and varies according to the type of flower (long or short styled). This bee species can be used effectively for the pollination of this crop. The study of *B. impatiens* behavior confirmed that only one visit to tomato flowers is necessary to ensure the production of tomatoes of higher quality (heavier and with greater number of seeds) to non visited flowers. Moreover, it showed that it's not necessary to consider the size of the foragers used for tomato pollination. Foragers with heavier thorax did not produced tomatoes with higher quality. We demonstrated that foragers of this species are capable of detect the amount of pollen available on flowers while visiting them and as strategy they spend less time on flower with less pollen available. We also verified that *B. impatiens* foragers performed vibrations with different physical characteristics (frequency and velocity) while pollinating distinct plant species (tomato and eggplant). We compared the quantity of pollen that *M. fasciculata* and *B. impatiens* remove from eggplant flowers on the first visit and their vibration and the results indicated that velocity is more important than frequency for pollen removal from anthers. We also compared the vibration (frequency and velocity) of de *M. fasciculata* (on eggplant), *B. impatiens* (on eggplant and tomato) e *Bombus terrestris* (on tomato) during the first visit to flowers and concluded that *M. fasciculata* produces vibrations that also make it a potential pollinator of tomatoes.

Keywords: buzz pollination, *Melipona*, *Bombus*, foraging, Apidae.

Sumário

Capítulo 1:

Introdução geral – A polinização por vibração 12

Capítulo 2:

O potencial das abelhas *Melipona* na polinização por vibração, considerando as características físicas da vibração..... 33

Capítulo 3:

O comportamento da abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* (Apidae, Meliponini) nas flores de (*Solanum melongena* L., Solanaceae) e as conseqüências para a polinização..... 56

Capítulo 4:

O comportamento de *Bombus impatiens* nas flores de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill, Solanaceae) e beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) e as conseqüências para a polinização. 85

Capítulo 5:

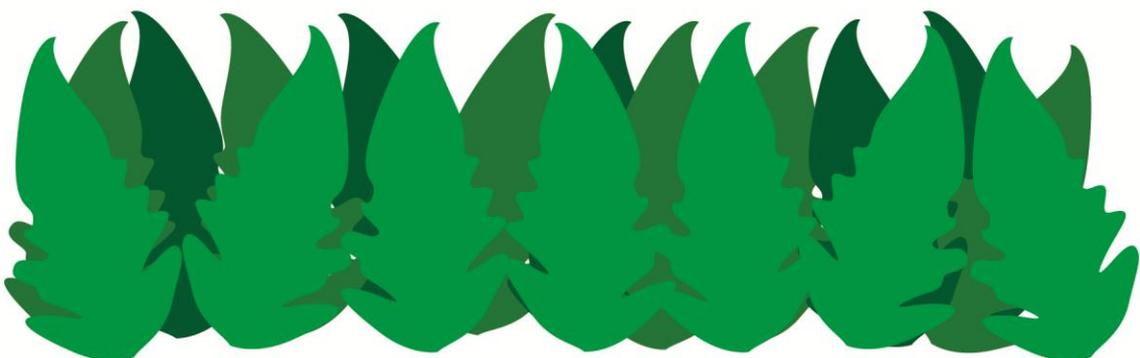
Discussão geral e conclusões: comparação entre as espécies..... 121



Capítulo 1:

A polinização por vibração.

Artigo de revisão publicado em Março de 2010 na
revista *Oecologia Australis* 14(1):140-151
(doi:10.4257/oeco.2010.1401.07)



Resumo

A polinização é essencial para a reprodução da maioria das espécies de plantas com flores. Além disso, constitui um serviço essencial na produção de muitos alimentos. Há um tipo de polinização relativamente pouco estudado, a polinização por vibração. Neste tipo de polinização, as abelhas agarram as anteras (predominantemente com deiscência poricida) e vibram seus tórax, agitando as anteras e liberando o pólen. O estudo da polinização por vibração, principalmente de seu mecanismo, é importante para a identificação de polinizadores nativos comercialmente viáveis para culturas agrícolas que apresentam esse tipo de polinização, como por exemplo, o tomate, a beringela e o jiló.

Abstract

Pollination is essential for the reproduction of most species of flowering plants. In addition, it is an essential service in the production of many foods. There is a kind of relatively little studied pollination, pollination by vibration. In this type of pollination, bees hold the anthers (predominantly poricidally dehiscent pollen) and vibrate their thorax, shaking the anthers and releasing pollen. The study of pollination by vibration, especially of its mechanism, it is important to identify commercially viable native pollinators for crops that exhibit this type of pollination, such as tomato, eggplant and scarlet eggplant.

A importância do estudo da polinização

A polinização é um dos processos chave na manutenção da diversidade, da abundância e das atividades dos organismos (Kevan & Viana, 2003; Klein *et al.*, 2007), visto que os polinizadores são essenciais para a reprodução da maioria das espécies de plantas com flores, e assim para o próprio ecossistema, pois sustentam as populações de plantas que muitos outros animais utilizam como alimento e abrigo (Sheperd *et al.*, 2003; Klein *et al.*, 2007). Processos chave são chamados de serviços do ecossistema e incluem, além da polinização, outras funções ecológicas, como por exemplo, a reciclagem de nutrientes, a dispersão de sementes e o controle de pragas (Kevan & Viana, 2003; Kremen *et al.*, 2004; Kremen, 2005; Kremen & Ostfeld, 2005; Losey & Vaughan, 2006; Kremen *et al.*, 2007).

Apesar do estudo da biologia da polinização existir há pelo menos dois séculos (Kearns & Inouye, 1993), ainda se sabe muito pouco sobre as interações entre os polinizadores invertebrados e as plantas que eles visitam em busca de alimento (Allen-Wardell *et al.*, 1998, Kevan & Viana, 2003) e sobre os mecanismos de polinização realizados por eles (Klein *et al.*, 2003). Estudos comparativos sobre a produção de sementes e de frutos com o controle do acesso dos polinizadores às flores fornecem dados importantes para a identificação de espécies polinizadoras chave, mas poucos estudos estão disponíveis (Klein *et al.*, 2007). Assim, um dos primeiros passos para promover a conservação dos polinizadores, é incentivar estudos sobre as relações entre polinizadores e plantas economicamente

importantes, o que inclui a análise do papel ecológico e econômico dos polinizadores e informações chave como o efeito da polinização na produção de frutos e sementes (Primack, 1993; Torchio, 1994; Allen-Wardell *et al.*, 1998). As abelhas são consideradas o grupo de polinizadores mais relevante (Shepherd *et al.*, 2003), sendo as mais predominantes e economicamente importantes na maioria das regiões geográficas (Kremen *et al.*, 2007).

A polinização por vibração

A grande maioria das angiospermas possui anteras com deiscência longitudinal, em contrapartida a apenas 6 a 8% de espécies com deiscência poricida. Nesse tipo de deiscência o pólen sai da antera através de poros apicais (Buchmann, 1983). Na floresta de *Araucaria*, no Brasil, 10% das plantas melitófilas apresentam flores com anteras poricidas (Harter *et al.*, 2002). Em 1962, Michener descreveu a polinização por vibração como “um interessante método de coleta de pólen pelas abelhas em flores com anteras tubulares”. O que chamou a atenção desse pesquisador foi a produção de um som audível (“*loud buzzing sounds*”) pelas abelhas durante a coleta de pólen em certas flores, principalmente de plantas do gênero *Cassia* (Leguminosae) e *Solanum* (Solanaceae).

Durante esse tipo de coleta de pólen, as abelhas usam sua musculatura torácica para vibrar as anteras e liberar o pólen, processo chamado de polinização por vibração (*buzz pollination*) (Buchmann & Hurley, 1978). Apesar desse modo de polinização estar relacionado às anteras poricidas, há plantas que possuem anteras com deiscência longitudinal que são polinizadas por vibração, como algumas espécies brasileiras de Myrtaceae (Michener, 1962; Buchmann & Hurley, 1978; Buchmann, 1983, 1985; Proença, 1992; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 2006) e em algumas espécies de Leguminosae, como *Swartia pickelii* (Lopes & Machado, 1996).

Abelhas das famílias Andrenidae, Apidae (exceto *Apis*), Colletidae, Halictidae e Megachilidae realizam a polinização por vibração (Michener, 1962; Wille, 1963; Buchmann & Hurley, 1978; Harter *et al.*, 2002 – exemplos de espécies de abelhas e as plantas que estas visitam se encontram na tabela 1.1). Não se sabe se esse comportamento é instintivo (Buchmann, 1985; King, 1993) ou aprendido durante as primeiras visitas às flores (Michener, 1962). Em flores de anteras poricidas, primeiramente, as abelhas pousam sobre as anteras da flor, curvam-se em volta ou no ápice do cone de anteras e agarram fortemente os estames. Ao contrair seus músculos torácicos, vibrações são transmitidas para as anteras através do tórax e das pernas, causando ressonância dentro dela e liberando o pólen (Buchmann & Hurley, 1978) (figuras 1.1 e 1.2). Após a visita, normalmente as anteras apresentam marcas necróticas em sua superfície (figura 1.3). Estas são marcas são causadas pelas garras das pernas das abelhas quando elas se agarram nas anteras para vibrar. Além disso, algumas abelhas permanecem agarradas às flores, pelas pernas e/ou mandíbulas, enquanto limpam o pólen do corpo para armazenar em estruturas especializadas

(escopas ou corbículas dependendo da espécie de abelha), o que também causa essas marcas.

Tabela 1.1. Algumas espécies de abelhas e as plantas onde realizam polinização por vibração.

Família	Espécie de abelha	Espécie de planta	Referência
Andrenidae	<i>Oxaea flavescens</i>	<i>Cambessedesia hilariana</i> , <i>Chamaecrista cathartica</i> , <i>Chamaecrista glauca</i> , <i>Senna affinis</i> , <i>Senna campestris</i> , <i>Senna pendula</i> , <i>Senna rugosa</i> , <i>Senna sylvestris</i>	Carvalho & Oliveira, 2003; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988; Fracasso & Sazima, 2004
	<i>Psaenythia bergi</i>	<i>Leandra sublanata</i> , <i>Tibouchina gracilis</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
Apidae	<i>Bombus atratus</i>	<i>L. sublanata</i> , <i>Leandra</i> sp, <i>Miconia cinerascens</i> , <i>Rhynchanthera brachyrhyncha</i> , <i>T. gracilis</i> , <i>T. sellowiana</i> , <i>Tibouchina</i> sp, <i>S. affinis</i> , <i>Solanum flaccidum</i> , <i>S. gemellum</i> , <i>S. nigrescens</i> , <i>S. vaillantii</i> , <i>S. variabile</i> , <i>S. viarum</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988
	<i>Bombus beaticola</i>	<i>Pedicularis chamissonis</i>	Kawai & Kudo, 2009
	<i>Bombus bifarius</i>	<i>Dodecatheon conjugens</i>	Harder & Barclay, 1994
	<i>Bombus brevivillus</i>	<i>Ouratea spectabilis</i> , <i>S. stramonifolium</i> , <i>Chamaecrista desvauxii</i>	Bezerra & Machado, 2003; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger,

		2006; Costa <i>et al.</i> , 2007
<i>Bombus hypocrita sapporoensis</i>	<i>P. chamissonis</i>	Kawai & Kudo, 2009
<i>Bombus melanopygus</i>	<i>D. conjugens</i>	Harder & Barclay, 1994
<i>Bombus mexicanus</i>	<i>Cassia biflora</i> , <i>S. wendlandii</i>	Michener, 1962; Wille, 1963
<i>Bombus morio</i>	<i>C. hilariana</i> , <i>C. cathartica</i> , <i>C. glauca</i> , <i>C. desvauxii</i> , <i>Chamaecrista flexuosa</i> , <i>M. cinerascens</i> , <i>R. brachyrhyncha</i> , <i>T. gracilis</i> , <i>T. sellowiana</i> , <i>S. flaccidum</i> , <i>S. gemellum</i> , <i>S. affinis</i> , <i>S. pendula</i> , <i>S. rugosa</i> , <i>Solanum lycocarpum</i> , <i>S. nigrescens</i> , <i>S. variabile</i> , <i>S. sylvestris</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002; Carvalho & Oliveira, 2003; Fracasso & Sazima, 2004; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988, 2006
<i>Bombus occidentalis</i>	<i>D. conjugens</i>	Harder & Barclay, 1994
<i>Bombus sonorus</i>	<i>Solanum</i> spp.	Buchmann & Cane, 1989
<i>Centris bicolor</i>	<i>M. cinerascens</i> , <i>S. affinis</i> , <i>S. variabile</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988; Harter <i>et al.</i> 2002
<i>Centris dorsata</i>	<i>S. pendula</i> , <i>S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988
<i>Centris longimana</i>	<i>S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988

<i>Centris fuscata</i>	<i>M. cinerascens</i> , <i>C. biflora</i> , <i>C. desvauxii</i>	Wille, 1963 ; Harter <i>et al.</i> , 2002; Costa <i>et al.</i> , 2007
<i>Centris obscuriventris</i>	<i>M. cinerascens</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Centris pectoralis</i>	<i>S. affinis</i> , <i>S. campestris</i> , <i>S. pendula</i> , <i>S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
<i>Centris cf nitens</i>	<i>C. hilariana</i>	Fracasso & Sazima, 2004
<i>Centris scopipes</i>	<i>S. affinis</i> , <i>S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
<i>Centris trigonoides</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Centris varia</i>	<i>S. campestris</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
<i>Epicharis dejeanii</i>	<i>S. flaccidum</i> , <i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Epicharis elegans</i>	<i>Cassia</i> sp	Michener, 1962
<i>Epicharis rustica flava</i>	<i>C. glauca</i> , <i>S. affinis</i> , <i>S. multijuga</i> , <i>S. pendula</i> , <i>S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
<i>Eufriesea violacea</i>	<i>L. sublanata</i> , <i>S. flaccidum</i> , <i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Euglossa cordata</i>	<i>C. hilariana</i>	Fracasso & Sazima, 2004
<i>Euglossa melanotricha</i>	<i>C. cathartica</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
<i>Eufriesea surinamensis</i>	<i>S. stramonifolium</i>	Bezerra & Machado, 2003
<i>Eulaema tropica</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Eulaema bombiformis niveofasciata</i>	<i>Swartzia pickelii</i>	Lopes & Machado, 1996

<i>Eulaema cingulata</i>	<i>S. pickelii</i> , <i>S. stramonifolium</i>	Lopes & Machado, 1996; Bezerra & Machado, 2003
<i>Eulaema meriana flavensces</i>	<i>S. pickelii</i>	Lopes & Machado, 1996
<i>Eulaema nigrita</i>	<i>S. stramonifolium</i>	Bezerra & Machado, 2003
<i>Exomalopsis fulvofasciata</i>	<i>C. desvauxii</i> , <i>C. cathartica</i> , <i>Chamaecrista laboutiaeeae</i> , <i>C. glauca</i> , <i>C. flexuosa</i> , <i>S. pendula</i> , <i>S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988
<i>Florilegus atropos</i>	<i>S. campestris</i> , <i>C. cathartica</i> , <i>C. desvauxii</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988
<i>Melipona beecheii beecheii</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Melipona bicolor schenki</i>	<i>L. sublanata</i> , <i>L. xanthocoma</i> , <i>M. cinerascens</i> , <i>R. brachyrhyncha</i> , <i>T. gracilis</i> , <i>T. sellowiana</i> , <i>Cyphomandra corymbiflora</i> , <i>S. gemellum</i> , <i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Melipona marginata obscurio</i>	<i>L. sublanata</i> , <i>M. cinerascens</i> , <i>M. hyemalis</i> , <i>T. gracilis</i> , <i>T. sellowiana</i> , <i>C. corymbiflora</i> , <i>S. gemellum</i> , <i>S. nigrescens</i> , <i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Melipona quadrifasciata</i>	<i>M. cinerascens</i> , <i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Melipona quinquefasciata</i>	<i>S. sylvestris</i>	Carvalho & Oliveira, 2004

<i>Melipona scutellaris</i>	<i>S. stramonifolium, S. pickelii</i>	Lopes & Machado, 1996; Bezerra & Machado, 2003
<i>Paratetrapedia maculata</i>	<i>S. flaccidum, S. vailantii</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Thygater analis</i>	<i>S. gemellum, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Thygater luederwaldti</i>	<i>Tibouchina</i> sp	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Thygater sordidipennis</i>	<i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Xylocopa (Megaxylocopa) fimbriata</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) gualanensis</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Xylocopa (Schonherria) barbatula</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Xylocopa (Schonherria) muscaria</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Xylocopa macrops</i>	<i>S. pendula, S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988
<i>Xylocopa (Schonherria) subvirescens</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Xylocopa artifex</i>	<i>R. brachyrhyncha, S. vailantii, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Xylocopa bimaculata</i>	<i>R. brachyrhyncha, T. gracilis, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Xylocopa brasilianorum</i>	<i>C. corymbiflora, R. brachyrhyncha, S. affinis, S. pendula S. flaccidum, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002; Carvalho & Oliveira, 2003; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger; 1988
<i>Xylocopa ciliata</i>	<i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Xylocopa frontalis</i>	<i>Cassia</i> sp, <i>S. affinis, S. rugosa, S. campestris</i>	Michener, 1962; Gottsberger & Silberbauer-

			Gottsberger, 1988
	<i>Xylocopa funesta</i>	<i>M. cinerascens, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
	<i>Xylocopa haematospila</i>	<i>M. cinerascens, C. corymbiflora</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
	<i>Xylocopa macrops</i>	<i>S. pendula, S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
	<i>Xylocopa ordinaria</i>	<i>S. affinis, S. multijuga, S. pendula</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
	<i>Xylocopa suspecta</i>	<i>S. pickelii, S. stramonifolium</i>	Lopes & Machado, 1996; Bezerra & Machado, 2003
	<i>Xylocopa virescens autorum</i>	<i>S. affinis, S. pendula, S. rugosa</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
	<i>Bicolletes iheringia</i>	<i>L. sublanata, M. cinerascens, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
	<i>Colletes rugicollis</i>	<i>S. nigrescens</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
Colletidae	<i>Ptiloglossa arizonensis</i>	<i>Solanum</i> spp	Buchmann & Cane, 1989
	<i>Ptiloglossa hemileuca</i>	<i>C. glauca</i>	Gottsberger & Silberbauer- Gottsberger, 1988
Halictidae	<i>Augochlora (A.) chyphogastra</i>	<i>L. sublanata, S. gemellum, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
	<i>Augochlora (A.) tantilla</i>	<i>L. sublanata, R. brachyrhyncha, S. gemellum, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
	<i>Augochlora (O.) semiramis</i>	<i>R. brachyrhyncha, T. gracilis</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002

<i>Augochloropsis aurifluens</i>	<i>C. flexuosa</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988
<i>Augochloropsis caeruleans</i>	<i>T. sellowiana, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis chloera</i>	<i>L. sublanata, M. cinerascens, T. gracilis</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis cleopatra</i>	<i>L. sublanata, M. cinerascens, R. brachyrhyncha, T. gracilis, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis cognata</i>	<i>M. cinerascens, T. gracilis, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis cupreola</i>	<i>R. brachyrhyncha, T. gracilis, T. sellowiana</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis discors</i>	<i>S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis euterpe</i>	<i>R. brachyrhyncha, T. gracilis</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis ignita</i>	<i>C. biflora</i>	Wille, 1963
<i>Augochloropsis paranensis</i>	<i>L. sublanata, R. brachyrhyncha, C. corymbiflora, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis sparsilis</i>	<i>L. sublanata, L. xanthocoma, M. cinerascens, R. brachyrhyncha, T. gracilis</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis sympleres</i>	<i>M. cinerascens, T. gracilis, S. iraniense, S. variabile</i>	Harter <i>et al.</i> , 2002
<i>Augochloropsis smithiana</i>	<i>S. pendula, C. desvauxii</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988
<i>Pseudaugochloropsis graminea</i>	<i>C. glauca, C. desvauxii, O. spectabilis, S. affinis,</i>	Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger,

	<i>S. pendula</i> , <i>S. campestris</i> , <i>S. lycocarpum</i>	2006
<i>Pseudaugochlora gramineae</i>	<i>S. sylvestris</i>	Carvalho & Oliveira, 2003

Nas espécies que não apresentam as anteras poricidas em cones, mas estames separados (figura 1.4), as abelhas agarram um conjunto de estames, penduram-se neles e vibram, como em *Cochlospermum regium* (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 2006), *S. pickelii* (Lopes & Machado, 1996) e em *Bixa orellana* (urucuzeiro) (Venturieri, comunicação pessoal). Abelhas menores podem vibrar anteras individuais, tanto no caso de flores com estames separados (figura 1.4) como no caso de flores com anteras em cones. Um exemplo de abelhas pequenas que vibram anteras individuais são as espécies de *Augochloropsis* que visitam as flores de *Cambessedesia hilariana* (Fracasso & Sazima, 2004). Em flores de *Senna*, *Cassia* e *Chamaecrista*, pequenas abelhas da família Halictidae também podem vibrar as anteras individualmente (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988), como *Senna sylvestris*, (Carvalho & Oliveira, 2003). Além disso, algumas espécies de abelhas coletam pólen de anteras poricidas através de “ordenha” (*milking* ou *biting* – Wille, 1963; Thorp, 2000), ou seja, introduzem a probóscide através dos poros para retirar o pólen ou ainda fazem buracos nas anteras e então retiram o pólen com a probóscide (figura 1.5), como *Trigona spinipes* (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988; Carvalho & Oliveira, 2003). Algumas, normalmente do gênero *Plebeia* ou *Tetragonisca*, ainda coletam o pólen remanescente na superfície das flores (*cleaning*) (Wille, 1963; Thorp, 2000; Harter *et al.*, 2002; Bezerra & Machado, 2003, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 2006).

A física da retirada do pólen por vibração foi estudada em mais detalhe em plantas comestíveis como o tomate (DeTar *et al.*, 1968), *Symphytum officinale* (confrei) e *Actinidia deliciosa* (kiwi), as duas últimas polinizadas por *Bombus hortorum* e *B. terrestris* (King, 1993), e também em espécies não cultivadas, como flores de *Solanum* polinizadas por vibração por *Ptiloglossa arizonensis* e *B. sonorus* (Buchmann & Cane, 1989). Outro exemplo é *S. laciniatum*, que é polinizada por *B. terrestris* (King & Buchmann, 1996). Assume-se que para as abelhas causarem a liberação do pólen seja necessário que as vibrações produzidas tenham a frequência natural das anteras (frequência com a qual as anteras vibrariam na ausência de uma força oposta) (Corbet *et al.*, 1988). Como as anteras das flores de diferentes espécies possuem variados tamanhos, taxas de umidade e quantidades de pólen, espera-se que suas frequências naturais variem também (King, 1993).



Figura 1.1. Halictídeo (Halictidae) coletando pólen por vibração e polinizando uma flor de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill., Solanaceae).



Figura 1.2. Abelha sem ferrão, *Melipona fasciculata* (Apidae), coletando pólen por vibração em beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae).



Figura 1.3. Marcas necróticas causadas pelas visitas das abelhas no cone de anteras de *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae).



Figura 1.4. Flor de *Bixa orellana* (Bixaceae), com numerosos estames com anteras de deiscência poricida.



Figura 1.5. Modos de coleta de pólen diferentes da vibração em flores com anteras poricidas. a) espécie de abelha não identificada coletando pólen através do poro do cone de anteras de *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae). b) abelha sem ferrão (Meliponini) coletando pólen através de um orifício, feito com suas mandíbulas, na parede externa da antera de *L. esculentum*.

Harder & Barclay (1994) sugerem que as anteras poricidas apresentam mecanismos de liberação de pólen que restringem a retirada de todos os grãos em uma única visita e faz com que seja liberada somente uma pequena porcentagem, liberando-o continuamente durante um período de tempo. Dessa maneira, esse mecanismo garante a visita de vários polinizadores, promovendo maior sucesso na dispersão do pólen. Esses pesquisadores constataram que nas flores de *Dodecatheon conjugens* as abelhas *Bombus* produzem vibrações com freqüências de $\leq 400\text{Hz}$ e retiram significativamente menos pólen do que vibrações com freqüências de 450-1000Hz, produzidas artificialmente. Deste modo, em última análise, o mecanismo de liberação de pólen estaria baseado na freqüência de vibração do visitante. Entretanto, King & Buchmann (1996) ao estudar o mecanismo de liberação de pólen em *Solanum laciniatum* concluíram que ele funciona a partir da desidratação gradual do fluido do tapete das partes inferiores (internas) da antera e não está relacionado a uma

mudança na frequência natural dos estames, já que suas frequências naturais não mudaram conforme a antera abria, liberava o pólen ou envelhecia. King & Lengoc (1993) relacionam a liberação do pólen principalmente à desidratação da camada de trifina que envolve os grãos de pólen. Para se concluir se esse mecanismo é baseado na frequência da vibração ou na desidratação das anteras, é necessário avaliar esses dois parâmetros simultaneamente em outras espécies de plantas. É possível que tanto as frequências de vibrações quanto a desidratação das anteras suportem esse mecanismo.

Apesar de não haver estudos que comprovem que abelhas maiores são melhores na polinização por vibração do que abelhas menores, esse fato aparece como uma premissa nos estudos sobre esse tipo de polinização, pois a força das vibrações geralmente é relacionada ao tamanho da abelha, visto que a força é igual à massa multiplicada pela aceleração. No entanto, Nunes-Silva *et al* 2008 em um estudo sobre a capacidade vibratória das abelhas sem ferrão – utilizando a metodologia de Hrnir *et al.* (2008), figura 1.6 – mostrou que as vibrações produzidas por sete espécies de tamanhos diferentes são parecidas em relação à frequência principal e velocidade da vibração, indicando que as mesmas podem possuir eficiências de polinização similar. Dessa maneira, apesar de serem necessários estudos comparativos, é possível que abelhas menores sejam tão eficientes em vibrar flores quanto as abelhas maiores. Desta maneira, a eficiência como polinizador dependerá de outras características comportamentais relacionadas ao forrageamento – como a frequência de visitas as flores, que está relacionada à quantidade de grãos de pólen transferidos para o estigma e que deve ser compatível com a necessidade da planta (ex. Morandin *et al.*, 2001a, 2001b; Palma *et al.*, 2008), o horário da visita (ex. Del Sarto *et al.*, 2005), que deve coincidir com o período de receptividade do estigma das flores (Kearns & Inouye, 1993), e tamanho e comportamento do visitante durante a coleta, que devem ser adequados para contatar o estigma das flores visitadas.

A polinização por vibração e as culturas agrícolas

A polinização por vibração é particularmente relevante para o cultivo de espécies da família Solanaceae, como, por exemplo, o tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller), a beringela (*Solanum melongena* L.), o jiló (*S. gilo* Raddi) e pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) (Raw, 2000). O tomate é auto-fecundado, entretanto, para as flores liberarem o pólen, é necessária a vibração das anteras (Buchmann, 1983). Em alguns casos, o vento pode vibrar as anteras e promover a deposição de pólen no estigma da própria flor, no entanto, se não houver vento, não haverá polinização e dessa maneira, a visita de insetos polinizadores é fundamental (McGregor, 1976).

Muitos estudos foram realizados sobre a utilização das abelhas *Bombus* na polinização de tomates (ex. Banda & Paxton, 1991; Dogterom *et al.*, 1998; Morandin *et al.* 2001a, 2001b; Kevan *et al.*, 1991). Em geral, se considera as abelhas *Bombus* os melhores polinizadores de tomate, entretanto, outras espécies de abelhas têm se

mostrado eficientes, como *Melipona quadrifasciata* (Del Sarto *et al.*, 2005; Bispo dos Santos *et al.*, 2009), *Nannotrigona perilampoides* (Cauich *et al.*, 2004; Palma *et al.*, 2008), *Xylocopa (Lestis) spp* (Hogendoorn *et al.*, 2000) e *Amegila chlorocyanea* (Hogendoorn *et al.*, 2006). Os estudos comparativos entre *B. impatiens* e *N. perilampoides* mostram que, apesar de *N. perilampoides* ser eficiente na polinização de tomate, *B. impatiens* é mais eficiente em relação à quantidade, tamanho e número de semente dos frutos produzidos (Palma *et al.*, 2008). Segundo Morandin *et al.* (2001b), o tamanho do tomate, depende de quanto pólen é transferido para o estigma.

Outras solanáceas agrícolas também já foram estudadas (ex. pimentão – McGregor, 1976; Free, 1993; Shipp *et al.*, 1994; Jarlan *et al.*, 1997; Raw, 2000; Dag & Kammer, 2001; Cruz *et al.*, 2005; Serrano & Guerra-Sanz, 2006; e beringela – Free, 1975; Abak *et al.*, 2000; Gemmill-Herren & Ochieng, 2008).

No Brasil, a utilização de abelhas sem ferrão para polinização de culturas agrícolas é praticamente inexistente. Um dos motivos é a indisponibilidade de colônias em larga escala (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006). Estudos têm sido feitos para avaliar a eficiência e a potencialidade de diferentes espécies de abelhas sem ferrão na polinização de diferentes culturas agrícolas, em campo aberto e em casas de vegetação, porém o conhecimento sobre esse tópico no país ainda é pequeno (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 2006; Slaa *et al.*, 2006).

Conclusões

Segundo Klein *et al.* (2007), o estudo comparativo de diferentes espécies na polinização de culturas agrícolas é muito importante para revelar espécies polinizadoras chave. No caso específico da polinização por vibração, os estudos que abordaram seus aspectos físicos concentraram-se no mecanismo de saída do pólen da antera e nas características qualitativas (exemplos: velocidade, aceleração, frequência) e quantitativas (magnitude dos aspectos qualitativos) das vibrações transmitidas para a planta que tornam possível a saída do pólen. Harder & Barclay (1994) apontam que para esclarecer esse mecanismo é necessário identificar as frequências das vibrações as quais diversas espécies de plantas estão sujeitas e que as abelhas são capazes de produzir. A utilização da técnica desenvolvida por Hrncir *et al.* (2008) (figura 1.6), que consiste em gravar a vibração das abelhas com um vibrômetro a laser enquanto estão presas por uma “forca”, pode ajudar na avaliação das vibrações que as abelhas são capazes de produzir (Nunes-Silva *et al.*, 2008). Em estudos anteriores, foram utilizados acelerômetros que são pendurados nos estiletes ou anteras (ex. King, 1993; King & Lengoc, 1993; King & Buchmann, 1995, 1996). O uso do vibrômetro a laser permite a mensuração das vibrações transmitidas para as anteras, sem adicionar peso ao conjunto e assim mudar as características físicas deste. Não é possível utilizar o acelerômetro em abelhas, sendo então utilizadas gravações do som emitido pela abelha durante a visita com microfones (ex. King & Lengoc, 1993; Harder & Bayclay, 1994). No entanto, essas gravações só fornecem a

freqüência da vibração, enquanto as gravações realizadas com o vibrômetro a laser também informam a velocidade das vibrações.

Nenhum dos estudos sobre o mecanismo da polinização por vibração abordou a importância das características físicas da vibração, como freqüência e velocidade, na produção de frutos, ou seja, se as diferentes espécies de abelhas produzem vibrações diferentes e se estas resultam em uma diferença na qualidade ou quantidade de frutos produzidos. Assim, a avaliação do papel das características físicas das vibrações das abelhas nas características dos frutos produzidos pode indicar quais espécies são mais indicadas para determinadas culturas agrícolas, juntamente com outros aspectos comportamentais já citados, bem como com a biologia floral e sistema reprodutivo da espécie de planta. No Brasil, é necessário expandir o conhecimento sobre as interações entre as abelhas nativas e plantas silvestres e agrícolas, pois esse conhecimento proporciona bases científicas para a tomada de decisões em relação à conservação dos polinizadores e também fornece novas alternativas para a agricultura. A polinização por vibração também está incluída nesse contexto.



Figura 1.6. Metodologia de Hrnčir *et al.* (2008) para medir a vibração de irritação (vibração realizada pelas abelhas quando presas em uma “força”) em abelhas (*annoyance buzzing*). O ponto vermelho brilhante é o reflexo do raio emitido pelo vibrômetro a laser. Abelha: *Melipona rufiventris*.

Referências bibliográficas

ABAK K., OZDOGAN A.O., DASGAN H.Y., DERIN K. & KAFTANOGLU O. 2000. Effectiveness of bumble bees as pollinators for eggplants grown in unheated greenhouses. *Acta Horticulturae*, 514:197-203.

ALLEN-WARDELL G., BERNHARDT P., BURQUEZ A. BUCHMANN S., CANE J., COX P.A., DALTON V., FEINSINGER P., INGRAM M., INOUE D., JONES C.E., KENNEDY K., KEVAN P., KOPOWITZ H, MEDELLIN R., MEDELLIN-MORALES S., NABHAN G.P., PAVLIK B., TEPEDINO V., TORCHIO P. & WALKER S. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conservation Biology*, 12: (1):8-17.

- BANDA H.J. & PAXTON R.J. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bees. *Acta Horticulturae*, 288:194-198.
- BEZERRA E.L.S. & MACHADO I.C. 2003. Biologia floral e sistema de polinização de *Solanum stramonifolium* Jacq. (Solanaceae) em remanescente de Mata Atlântica, Pernambuco. *Acta Botânica Brasileira*, 17(2):247-257.
- BISPO DOS SANTOS S.A., ROSELINO A.C., HRNCIR M. & BEGO L.R. 2009. Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). *Genetics and Molecular Research*, 8:751-757.
- BUCHMANN S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds) *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Scientific and Academic Editions, New York, Van Nostrand Reinhold, 73-113.
- BUCHMANN S.L. 1985. Bees use vibration to aid pollen collection from non-poricidal flowers. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 58(3):517-525.
- BUCHMANN S.L. & CANE J.H. 1989. Bees assess pollen returns while sonicating *Solanum* flowers. *Oecologia*, 81:289-294.
- BUCHMANN S.L. & HURLEY J.P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in angiosperms. *Journal of Theoretical Biology*, 72:639-657.
- BUCHMANN S.L., JONES C.E. & COLIN L.J. 1977. Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *Solanum xantii* (Solanaceae) in Southern California. *The Wasmann Journal Biology*, 35:1-25.
- CARVALHO D.A. & OLIVEIRA P.E. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) H.S. Irwin & Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica*, 26(3):319-328.
- CAUICH O., QUEZADA-EUÁN J.J.G., MACIAS-MACIAS J.O., REYES-OREGEL V., MEDINA-PERALTA S. & PARRA-TABLA V. 2004. Behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in subtropical México. *Journal of Economic Entomology*, 97(2):172-179.
- CORBET S.A., CHAPMAN H. & SAVILLE N. 1988. Vibratory collection and flower form: bumble-bees on *Actinidia*, *Symphytum*, *Borago* and *Polygonatum*. *Functional Ecology*, 2:147-155.
- CORTOPASSI-LAURINO M., IMPERATRIZ-FONSECA V.L., ROUBIK D.W., DOLLIN A., HEARD T., AGUILAR I., VENTURIERI G.C., EARDLEY C. & NOGUEIRA-NETO P. 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie*, 37:275-292.
- COSTA C.B.N., LAMBERT S.M., BORBA L.E. & QUEIROZ L.P. 2007. Post-zygotic reproductive isolation between sympatric taxa in the *Chamaecrista desvauxii* complex (Leguminosae–Caesalpinioideae). *Annals of Botany*, 99: 625-635.

- CRUZ D.O., FREITAS B.M., SILVA L.A., SILVA E.M.S. & BOMFIM I.G.A. 2005. Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(12): 1197-1201.
- DAG A. & KAMMER Y. 2001. Comparison between the effectiveness of honey bee (*Apis mellifera*) and bumble bee (*Bombus terrestris*) as pollinators of greenhouse sweet pepper (*Capsicum annuum*). *American Bee Journal*, 141:447-448.
- DEL SARTO M.C.L., PERUQUETTI R.C. & CAMPOS L.A.O. 2005. Evaluation of the neotropical bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 98(2):260-266.
- DETAR W.R., HAUGH C.G. & HAMILTON J.F. 1968. Acoustically forced vibration of greenhouse tomato blossoms to induce pollination. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 11(5):731-735, 738.
- DOGTEROM M.H., MATTEONI J.A. & PLOWRIGHT R.C. 1998. Pollination of greenhouse tomatoes by the North American *Bombus vosnesenski* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(1):71-75.
- FRACASSO C.A. & SAZIMA M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) D.C. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Revista Brasileira de Botânica*, 27(4):797-804.
- FREE J.B. 1975. Pollination of *Capsicum frutescens* L., *Capsicum annuum* L. and *Solanum melongena* L. (Solanaceae) in Jamaica. *Tropical Agriculture*, 52(4):353-357.
- FREE J.B. 1993. *Insect pollination of crops*. 2ed. London, Academic Press, 684p.
- GEMMILL-HERREN B. & OCHIENG A.O. 2008. Role of native bees and natural habitats in eggplant (*Solanum melongena*) pollination in Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 127(1-2):31-36.
- GOTTSBERGER G. & SILBERBAUER-GOTTSBERGER I. 1988. Evolution of flower structure and pollination in Neotropical Cassinae (Caesalpiniaceae) species. *Phyton* (Austria), 28(2):293-320.
- GOTTSBERGER G. & SILBERBAUER-GOTTSBERGER I. 2006. *Life in the Cerrado: a South American Tropical Seasonal Vegetation. Vol. II. Pollination and seed dispersal*. 1 ed. Ulm, Reta Verlag, 384 p.
- HARDER L.D. & BARCLAY R.M.R. 1994. The functional significance of poricidal anthers and buzz pollination: controlled pollen removal from *Dodecatheon*. *Functional Ecology*, 8(4):509-517.
- HARTER B., LEISTIKOW C., WILMS W., TRUYLIO B. & ENGELS W. 2002. Bees collecting pollen from flowers with poricidal anthers in a south Brazilian *Araucaria* forest: a community study. *Journal of Apicultural Research*, 40 (1-2):9:16.

HOGENDOORN K, STEEN Z. & SCHWARZ M.P. 2000. Native Australian carpenter bees as a potential alternative to introducing bumble bees for tomato pollination in greenhouses. *Journal of Apicultural Research*, 39(1-2):67-74.

HOGENDOORN K., GROSS C.L., SEDGLEY M. & KELLER M.A. 2006. Increased tomato yield through pollination by native Australian *Amegilla chlorocyanea* (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Economic Entomology*, 99(3):829-833.

HRNCIR M., GRAVEL A.I., SCHORKOPF D.L.P., SCHMIDT V.M., ZUCCHI R. & BARTH F.G. 2008. Thoracic vibrations in stingless bees (*Melipona seminigra*): resonances of the thorax influence vibrations associated with flight but not those associated with sound production. *Journal of Experimental Biology*, 211:678-685.

IMPERATRIZ-FONSECA V., SARAIVA A.M. & DE JONG D. 2006. *Bees as pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting best practices*. Ribeirão Preto, Holos Editora, 112p.

JARLAN A., OLIVEIRA D. & GINGRAS J. 1997. Pollination of sweet pepper (*Capsicum annum* L.) in greenhouse by the syrphid fly *Eristalis tenax* L. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 437:335-340.

KAWAI Y. & KUDO G. 2009. Effectiveness of buzz pollination in *Pedicularis chamissonis*: significance of multiple visits by bumblebees. *Ecological Research*, 24:215-223.

KEARNS C.A. & INOUE D. 1993. *Techniques for pollinations biologists*. Niwot, University Press of Colorado, 579p.

KEVAN P.G., STRAVER W.A., OFFER M. & LAVERTY T.M. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bumble bees in Ontario. *Proceedings of The Entomological Society Of Ontario*, 122:15-19.

KEVAN P.G. & VIANA B.F. 2003. The global decline of pollination services. *Biodiversity*, 4(4):3-8.

KING M.J. 1993. Buzz foraging mechanism in bumble bees. *Journal of Apicultural Research*, 32(1):41-49.

KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1995. Bumble bee-initiated vibration release mechanism of *Rhododendron* pollen. *American Journal of Botany*, 82(11):1407-1411.

KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1996. Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology*, 10:449-456.

KING M.J. & LENGOC L. 1993. Vibratory pollen collection dynamics. *Transactions of the ASAE*, 36(1):135-140.

KLEIN A.M., STEFFAN-DEWENTER I. & TSCHARNTKE T. 2003. Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270(1518):955-961.

- KLEIN A.M., VAISSIÈRE B.E., CANE J.H., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A., KREMER C. & TSCHARNTKE T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274(1608):303-313.
- KREMEN C. 2005. Managing ecosystem services: what do we need to know about their ecology? *Ecology Letters*, 8:468-479.
- KREMEN C. & OSTFELD R.S. 2005. A call to ecologists: measuring, analyzing, and managing ecosystem services. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3(10):540-548.
- KREMEN C., WILLIAMS N.M., BUGG R.L., FAY J.P. & THORP R.W. 2004. The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters*, 7:1109-1119.
- KREMEN C., WILLIAMS N.M.; AIZEN M.A., GEMMILL-HERREN B., LEBUHN G., MINCKLEY R., PACKER L., POTTS S.G., ROULSON T., STEFFAN-DEWENTER I., VÁZQUEZ D.P., WINFREE R., ADAMS L., CRONE E.E., GREENLEAF S.S., KEITT T.H., KLEIN A.M., REGETZ J. & RICKETTS T.H. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*, 10:299-314.
- LOPES A.V.F. & MACHADO I.C.S. 1996. Biologia floral de *Swartia pickelli* Killip ex Ducke (Leguminosae-Papilionoideae) e sua polinização por *Eulaema* spp. (Apidae-Euglossini). *Revista Brasileira de Botânica* 19(1):17-24.
- LOSEY J.E. & VAUGHAN M. 2006. The economic value of ecological services provided by insects. *BioScience*, 56(4):311-323.
- MCGREGOR S.E. 1976. *Insect pollination of cultivated crop plants*. 1 ed. Washington, DC, USDA, 411p.
- MICHENER C.D. 1962. An interesting method of pollen collecting by bees from flowers with tubular anthers. *Revista de Biologia Tropical*, 10(2):167-175.
- MORANDIN L.A., LAVERTY T.M. & KEVAN P.G. 2001a. Bumble bee (Hymenoptera: Apidae) activity and pollination levels in commercial tomato greenhouses. *Journal of Economic Entomology*, 94(2):462-467.
- MORANDIN L.A., LAVERTY T.M. & KEVAN P.G. 2001b. Effect of bumble bee (Hymenoptera: Apidae) pollination intensity on the quality of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 94(1): 172-179.
- NUNES-SILVA P., HRNCIR M. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. 2008. Thoracic vibrations in stingless bees: is body size important for an efficient buzz pollination? In: XXIII International Congress of Entomology, Durban, p. 2033.
- PALMA G., QUEZADA-EUÁN J.J.G., REYES-OREGEL V., MELÉNDEZ V. & MOO-VALLE H. 2008. Production of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) using

Nannotrigona perilampoides, *Bombus impatiens* and mechanical vibration (Hym.: Apoidea). *Journal of Applied Entomology*, 132:79-85.

PRIMACK R.B. 1993. *Essentials of conservation biology*. 1 ed. Massachusetts, Sinauer Associates Inc., 564p.

PROENÇA C.E. 1992. Buzz pollination – older and more widespread than we think? *Journal of Tropical Ecology*, 8:115-120.

RAW A. 2000. Foraging behaviour of wild bees at hot pepper flowers (*Capsicum annuum*) and its possible influence on cross pollination. *Annals of Botany*, 84:487-492.

SERRANO A.R. & GUERRA-SANZ J.M. 2006. Quality fruit improvement in sweet pepper culture by bumblebee pollination. *Scientia Horticulturae*, 110:160-166.

SHEPERD M., BUCHMANN S.L., VAUGHAN M. & BLACK S.H. 2003. *Pollinator Conservation Handbook*. The Xerces Society, Portland, 145 p.

SLAA E.J., SANCHEZ L.A., MALAGODI-BRAGA K.S. & HOFSTEDÉ F.E. 2006. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37:293-315.

SHIPP J.L., WHITFIELD G.H. & PAPADOPOULOS A.P. 1994. Effectiveness of bumble bee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera: Apidae), as a pollinator of greenhouse sweet pepper. *Scientia Horticulturae*, 57:29-39.

THORP R.W. 2000. The collection of pollen by bees. *Plant Systematics and Evolution*, 222:211-223.

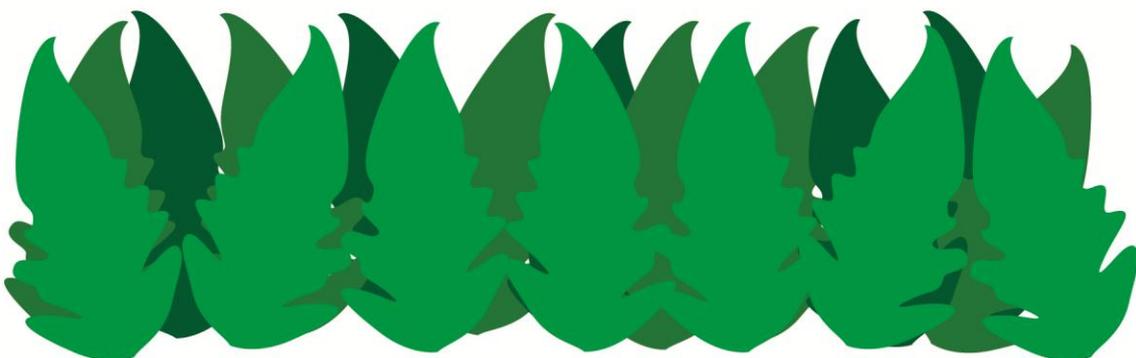
TORCHIO P.F. 1994. The present status and future prospects of non social bees as crop pollinators. *Bee World*, 75: 49-53.

WILLE A. 1963. Behavioral adaptations of bees for pollen collecting from *Cassia* flowers. *Revista de Biologia Tropical*, 11(2):205-210.



Capítulo 2:

O potencial das abelhas *Melipona* na polinização por vibração, considerando as características físicas da vibração.



Resumo

Entre as espécies de abelhas sociais, além de *Bombus*, as abelhas do gênero *Melipona* realizam polinização por vibração. Considerando este tipo de polinização na agricultura brasileira, as abelhas desse gênero podem ser uma alternativa a *Bombus*. Nesse estudo avaliamos o potencial de oito espécies de *Melipona* analisando as vibrações torácicas que elas produzem em dois sistemas no laboratório: força e força-flor. Para *M. melanoventer* e *M. fasciculata* também analisamos a vibração que produzem naturalmente em flores, respectivamente em *Bixa orellana* e *Cassia tora*, e *Solanum melongena*. Os resultados indicam que o sistema de força pode ser usado para prever a frequência dominante e a amplitude de velocidade das vibrações que as abelhas geram naturalmente nas flores. O sistema de força-flor, no entanto, é o mais adequado. Todas as espécies apresentaram vibrações semelhantes, considerando a frequência principal e a amplitude de velocidade da vibração, e possuem potencial para serem utilizadas na polinização de culturas que requerem polinização por vibração.

Abstract

Among social bees, besides *Bombus*, bees of the genus *Melipona* perform buzz pollination. Concerning this kind of pollination in Brazilian agriculture, therefore, bees of this genus can be an important alternative to *Bombus*. In this study we evaluated the potential of eight *Melipona* species, analyzing the thoracic vibrations they produce in two laboratory-settings: sling-tethering and sling-tethering on a flower. For *M. melanoventer* and *M. fasciculata*, we also evaluated the vibration naturally produced by the bees on flowers, *Bixa orellana* and *Cassia tora*, and *Solanum melongena*, respectively. The results indicate that sling-tethering can be used to predict the main frequency and velocity amplitude of the vibrations that bees naturally generate on flowers. Sling-tethering on a flower, however, is a more adequate system. All species presented similar vibrations, concerning main frequency and velocity amplitude of the vibration, and have potential to be used for pollination of crops that require buzz pollination.

Introdução

A importância da polinização para a agricultura tem sido apontada por muitos estudos (Klein *et al.*, 2007) e nos últimos anos grande atenção tem sido dada a esse tópico visto que a falta de polinizadores pode acarretar uma diminuição na produção de alimentos e um aumento na área cultivada para suprir essa diminuição, o que pode levar a um aumento no desmatamento (Aizen *et al.*, 2009).

A polinização por vibração é particularmente relevante para o cultivo de espécies da família Solanaceae, como, por exemplo, o tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller), a beringela (*Solanum melongena* L.) e o jiló (*S. gilo* Raddi) (Raw, 2000). O tomate é auto-fecundado, entretanto, para as flores liberarem o pólen, é necessária a agitação das anteras (Buchmann, 1983). Em espaços abertos, o vento

causa a agitação das anteras e a fecundação pode ocorrer, mas não entre plantas, e, se não houver vento, não haverá polinização e, dessa maneira, a visita de insetos polinizadores se torna benéfica (McGregor, 1976). Além disso, dentro de limites, o tamanho dos frutos, como o tomate, depende de quanto pólen é transferido para o estigma (Morandin *et al.*, 2001a).

Durante esse tipo de coleta de pólen, as abelhas usam sua musculatura torácica para vibrar as anteras e liberar o pólen. Algumas espécies de abelhas das famílias Andrenidae, Apidae (exceto *Apis*), Colletidae, Halictidae, Oxaeidae e Megachilidae realizam a polinização por vibração (Michener, 1962; Wille, 1963; Buchmann & Hurley, 1978; Harter *et al.*, 2002). Primeiramente as abelhas se alinham na corola da flor, curvam-se em volta ou no ápice do cone de anteras e agarram fortemente os estames. Ao contrair seus músculos torácicos, as vibrações das contrações são transmitidas para as anteras através do tórax e das pernas, causando ressonância dentro dela e liberando o pólen (Buchmann & Hurley, 1978).

Muitos estudos foram realizados sobre a utilização das abelhas *Bombus* na polinização de tomates (ex.: Banda & Paxton, 1991, Dogterom *et al.*, 1998; Morandin *et al.* 2001a, 2001b; Kevan *et al.* 1991) e geralmente as abelhas do gênero *Bombus* são consideradas os melhores polinizadores de tomate, no entanto, outras espécies de abelhas têm se mostrado eficientes, como *Melipona quadrifasciata* (Del Sarto *et al.*, 2005; Bispo dos Santos *et al.*, 2009), *M. fasciculata* (Pires, 2009), *Nannotrigona perilampoides* (Cauich *et al.*, 2004; Palma *et al.*, 2008), *Xylocopa (Lestis) spp* (Hogendoorn *et al.*, 2000) e *Amegila chlorocyanea* (Hogendoorn *et al.*, 2006). Apesar de *N. perilampoides* (Cauich *et al.*, 2004; Palma *et al.* 2008) ter se mostrado eficiente na polinização de tomate, não se sabe se essa espécie vibra para retirar o pólen da flor (Quezada-Euán, comunicação pessoal). Dentre os meliponíneos, somente as abelhas do gênero *Melipona* foram observadas realizando esse comportamento (Buchmann, 1985).

Outras solanáceas agrícolas também já foram estudadas (ex.: pimentão – McGregor, 1976; Free, 1993; Shipp *et al.*, 1994; Jarlan *et al.*, 1997; Raw, 2000; Dag & Kammer, 2001; Cruz *et al.*, 2005; Serrano & Guerra-Sanz, 2006; beringela – Free 1975; Abak *et al.*, 1995, 2000; Gemmill-Herren & Ochieng, 2008), porém há poucos estudos que avaliam espécies que não pertencem ao gênero *Bombus* na polinização dessas espécies de plantas.

O estudo comparativo de diferentes espécies na polinização de culturas agrícolas é muito importante para revelar espécies polinizadoras chave (Klein *et al.*, 2007). Os estudos citados acima focam na qualidade e quantidade de frutos produzidos. Outra forma de se avaliar o potencial das diferentes espécies de abelhas na polinização por vibração é analisar características comportamentais, como as características de sua vibração (Nunes-Silva *et al.*, 2010), o que poderia indicar quais espécies deveriam ser prioritariamente testadas na prática. Além disso, para esclarecer o mecanismo de retirada do pólen das anteras poricidas é necessário identificar as frequências das vibrações às quais diversas espécies de plantas estão sujeitas e que as abelhas são capazes de produzir (Harder & Barclay, 1994).

Dessa maneira, o principal objetivo desse estudo foi avaliar a capacidade vibratória das abelhas *Melipona*, analisando as características físicas das vibrações produzidas por elas. Outros objetivos desse estudo foram: (1) avaliar se os sistemas força e força-flor (descritos posteriormente) são eficientes em prever a frequência dominante e a amplitude de velocidade da vibração das abelhas durante a polinização por vibração e (2) verificar se a capacidade vibratória dessas abelhas está relacionada ao peso do tórax.

Material e métodos

Locais e período de estudo:

Parte das gravações foi realizada no laboratório de Meliponicultura da Embrapa Amazônia Oriental em Belém (PA – Brasil) em abril de 2009 e parte no laboratório de Ecologia de Abelhas da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, em Ribeirão Preto (SP – Brasil) em novembro de 2009. O experimento com *Melipona fuliginosa* foi realizado em uma propriedade rural no município de Inhangapi (PA – Brasil) também em abril de 2009.

Gravação das vibrações das abelhas:

As espécies investigadas foram: *M. fasciculata* (Mfa), *M. flavolineata* (Mfl), *M. fuliginosa* (Mfu), *M. melanoventer* (Mme) e *M. seminigra* (Mse) em Belém e *M. marginata* (Mma), *M. quadrifasciata anthidioides* (Mqu) e *M. scutellaris* (Msc) em Ribeirão Preto. Os indivíduos (tamanhos amostrais indicados nos resultados) de cada espécie foram coletados na entrada da colônia, ao chegarem. Dois experimentos foram realizados com essas espécies de abelhas: sistema força e sistema força-flor. Após os experimentos o tórax dos indivíduos foi pesado com uma balança de precisão (10^{-3} g na Embrapa e 10^{-4} g na USP).

Sistema força: nesse experimento, seguramos as abelhas pela região entre a cabeça e o tórax utilizando um fio de nylon preso por uma seringa, formando uma força (figura 2.1). Ao serem presas, as abelhas vibravam o tórax. Esse “annoyance buzzing” (vibrações produzidas pelas abelhas quando incomodadas) foi medido com um vibrômetro a laser (método descrito por Hrncir *et al.*, 2008; figura 2.1). As vibrações foram gravadas com o programa Soundforge 7.0.

Sistema força-flor: nesse sistema as abelhas estavam presas pela força, mas eram posicionadas sobre uma flor de *Solanum melongena* (beringela, variedade “Embu”) (figura 2.2). Durante esse experimento, a vibração da antera quando uma abelha vibrava em sua superfície também foi gravada (transmissão da vibração). Esse experimento não foi realizado com *M. fuliginosa*, visto que essa colônia estava em uma propriedade rural onde não havia flores de beringela.

Também foi gravada a vibração de *M. melanoventer* durante a polinização de *Bixa orellana* L. (Bixaceae, urucum) (figura 2.3A) e *Cassia tora* (Fabaceae, mata-pasto) (figura 2.3B) na Embrapa.



Figura 2.1. Gravação da vibração das abelhas no sistema força. A) *Melipona melanoventer* durante a gravação de sua vibração com a técnica de Hrnir *et al.* (2008), mostrando o vibrômetro a laser. B) Força. O ponto vermelho no tórax da abelha é o raio laser do vibrômetro.



Figura 2.2. Sistema força-flor. *Melipona fasciculata* durante a gravação de sua vibração sobre uma flor de beringela.

Além desses dois experimentos em laboratório, a vibração das forrageiras de *M. fasciculata* durante a visita em beringela (variedade “Embu”) foi gravada em flores não visitadas anteriormente e flores já visitadas (tamanhos amostrais indicados nos resultados). As plantas estavam no interior de uma casa de vegetação no Laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental em Belém (PA).

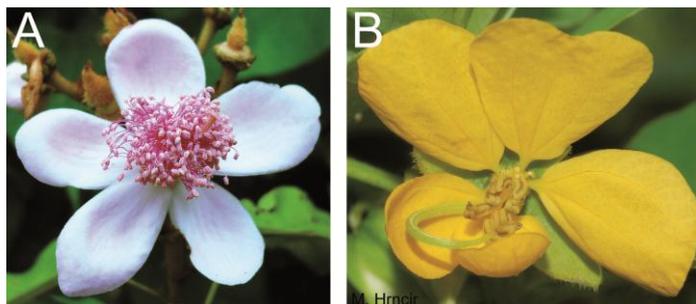


Figura 2.3: Espécies de plantas nas quais a vibração de *Melipona melanoventer* foi gravada. A) *Bixa orellana* (Bixaceae, urucum). B) *Cassia tora* (Fabaceae, mata-pasto).

Análise dos dados

As vibrações foram analisadas com o programa SpectraPro 3.32 quanto a frequência dominante (Hz) e a amplitude de velocidade (mm/s). As gravações foram analisadas em forma de gráficos (figura 2.4a). As médias da frequência dominante (Hz; figura 2.4b) e da amplitude de velocidade (mm/s; 4c) dos pulsos vibratórios de cada abelha e antera de beringela foram calculadas (médias de 9 a 92 pulsos por indivíduo) e a partir desses valores as médias para cada espécie em cada experimento. A correlação entre o peso e as características físicas da vibração estudadas foi estimada pelo coeficiente de correlação de Spearman. Na comparação entre as médias dos grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$) e o método de Dunn para comparação posterior dos pares ($\alpha=0,05$). Essas análises foram realizadas no programa BioEstat e Statistica.

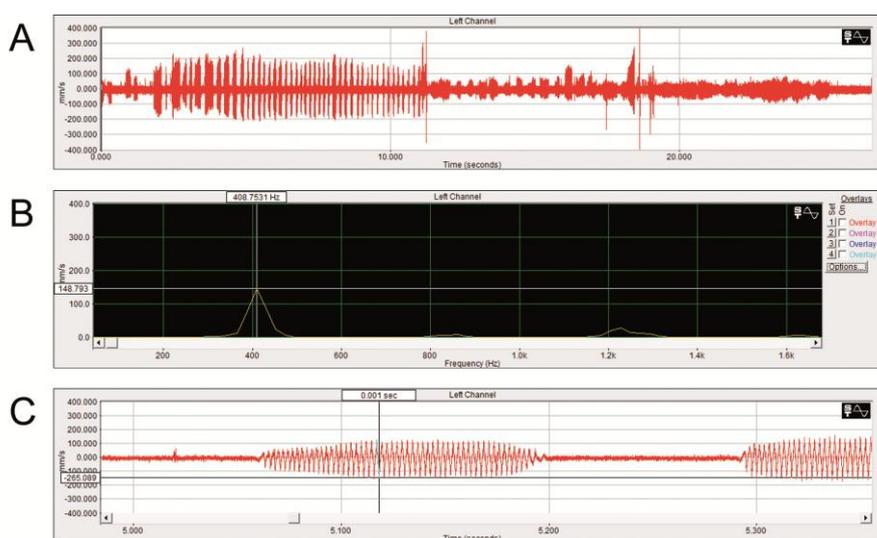


Figura 2.4. Gráficos gerados durante a análise da vibração das abelhas. A) Visão feral de uma gravação mostrando vários os pulsos vibratórios de uma abelha. B) Medição da frequência dominante do pulso selecionado. C) Medição da velocidade de um pulso.

Resultados

Os sistemas força e força-flor podem ser usados para avaliar vibrações naturais em flores?

As frequências dominantes medidas durante o sistema de força foram estatisticamente iguais às medidas no sistema força-flor em todas as espécies estudadas, exceto em *M. fasciculata* (tabela 2.1, figura 2.5).

As amplitudes de velocidade durante o sistema de força foram estatisticamente iguais às medidas no sistema força-flor em todas as espécies, exceto em *M. seminigra* (tabela 2.1, figura 2.6).

Investigando a transmissão das vibrações às flores, nós verificamos que as frequências dominantes causadas pelas abelhas nas anteras foram estatisticamente iguais às produzidas pelo tórax das abelhas que vibravam sobre ela no sistema força-flor (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p > 0,05$; tabela 2.1, figura 2.5). O mesmo ocorreu ao compararmos a vibração da abelha no sistema força com a vibração da antera utilizada no sistema força-flor, exceto em *M. marginata* e *M. fasciculata*, cujas vibrações do tórax foram maiores que as causadas nas anteras (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p < 0,05$; tabela 2.1, figura 2.5).

Em relação à amplitude de velocidade, verificamos que as amplitudes de velocidade causadas pelas abelhas de *M. marginata*, *M. flavolineata*, *M. scutellaris*, *M. melanoventer* e *M. fasciculata* nas anteras foram estatisticamente iguais às produzidas pelo tórax das abelhas que vibravam sobre ela no sistema força-flor (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p > 0,05$; tabela 2.1, figura 2.6A, B, E, F e G). O mesmo ocorreu ao compararmos esse parâmetro da vibração da abelha no sistema força com a vibração da antera utilizada no sistema força-flor (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p > 0,05$; tabela 2.1, figura 2.6A, B, E, F e G). Em *M. seminigra* a amplitude de velocidade da vibração causada na antera foi menor que a produzida pela abelha (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p < 0,05$; tabela 2.1, figura 2.6C). Já em *M. quadrifasciata anthidioides* a amplitude de velocidade da vibração causada na antera foi menor que a produzida pela abelha quando no sistema força-flor, mas igual à produzida pela abelha no sistema força (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p < 0,05$; tabela 2.1, figura 2.6D).

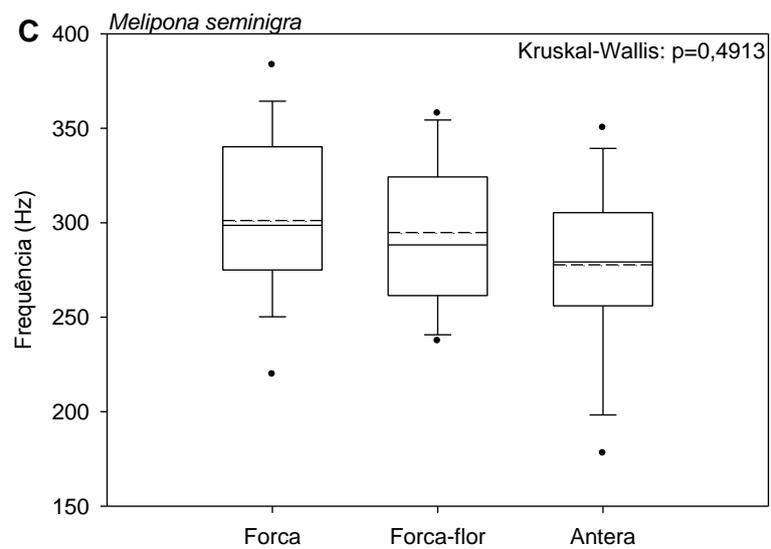
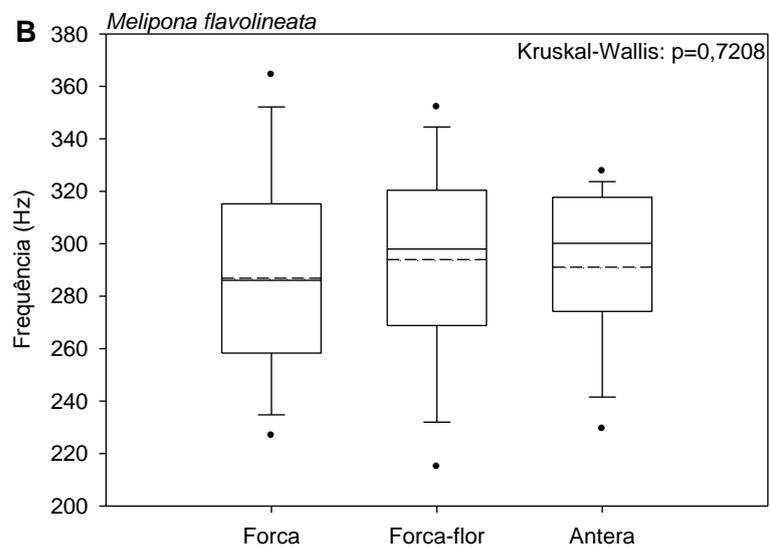
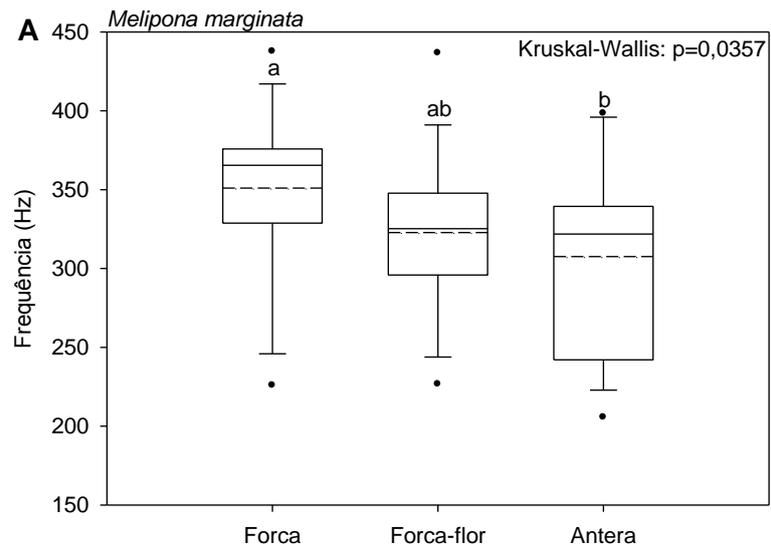
Nas espécies em que temos informação sobre a vibração natural em flores, ou seja, a vibração que as abelhas produzem enquanto as visitam no meio ambiente, houve situações diferentes. A frequência dominante média da vibração realizada por *M. fasciculata* na força foi estatisticamente maior que a realizada no sistema força-flor e naturalmente nas flores de beringela, as duas últimas sendo estatisticamente iguais (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p < 0,05$; tabela 2.1; figura 2.5G). Já a amplitude de velocidade foi igual nos três casos (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p > 0,05$; tabela 2.1; figura 2.6G).

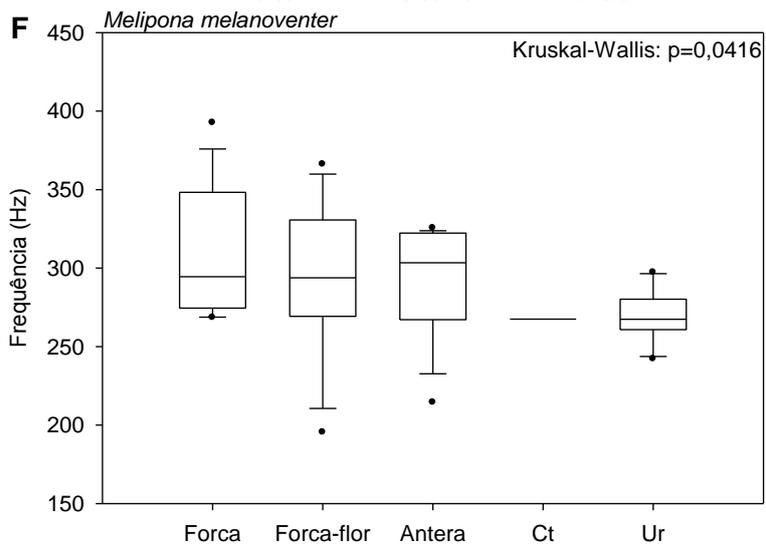
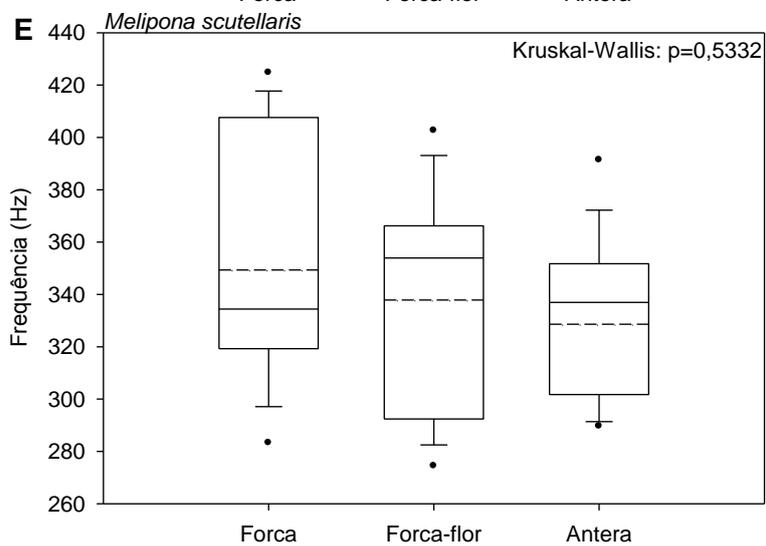
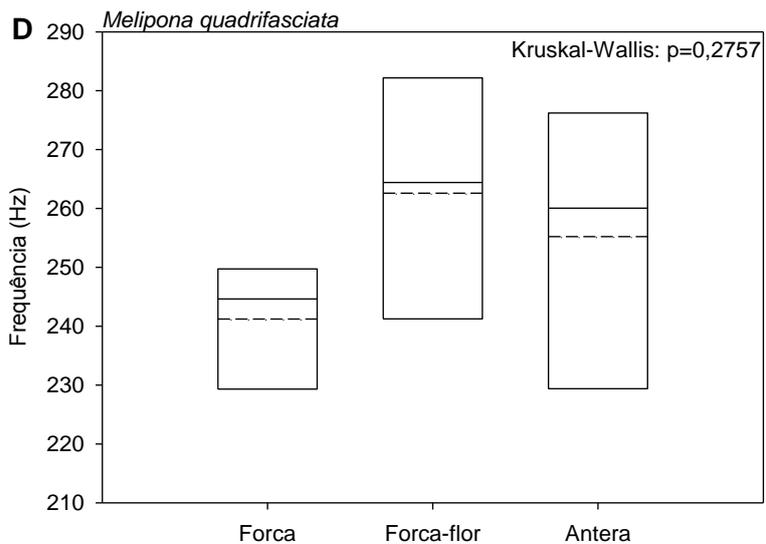
No caso de *M. melanoventer*, tanto a frequência dominante média quanto a amplitude média de velocidade da vibração realizada pelas abelhas foram estatisticamente iguais nos sistemas de força e força-flor e nas flores de *B. orellana* e

C. tora (Kruskall-Wallis, comparação método de Dunn, $p > 0,05$; tabela 2.1; figura 2.5F e 1.6F).

Tabela 2.1. Frequência dominante média (FDM) e amplitude média de velocidade (VM), peso médio do tórax (PT) e seus respectivos desvios padrões (DP) de forrageiras das oito espécies de abelhas sem ferrão em diferentes situações. N = número de amostras.

	Situação	FDM \pm DP (Hz)	VM \pm DP (mm/s)	N	PT (mg)
<i>M. marginata</i>	Forca	351,0 \pm 53,1	167,2 \pm 73,9	15	9,9 \pm 0,4
	Forca-flor	322,8 \pm 48,7	128,4 \pm 40,9	15	
	Antera	307,5 \pm 57,7	72,9 \pm 12,9	15	
<i>M. flavolineata</i>	Forca	286,8 \pm 40,7	318,1 \pm 82,0	15	21,5 \pm 1,8
	Forca-flor	294,0 \pm 36,3	255,0 \pm 57,8	15	
	Antera	291,1 \pm 29,5	123,5 \pm 29,8	15	
<i>M. seminigra</i>	Forca	301,2 \pm 40,7	374,3 \pm 72,7	15	30,5 \pm 2,8
	Forca-flor	294,8 \pm 37,4	216,2 \pm 57,9	15	
	Antera	277,8 \pm 45,2	101,6 \pm 28,4	15	
<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>	Forca	241,2 \pm 11,6	175,7 \pm 23,8	4	31,0 \pm 1,3
	Forca-flor	262,6 \pm 21,2	205,0 \pm 53,7	4	
	Antera	255,2 \pm 24,8	97,0 \pm 28,0	4	
<i>M. scutellaris</i>	Forca	349,4 \pm 44,4	290,2 \pm 91,7	15	32,7 \pm 2,7
	Forca-flor	337,8 \pm 40,6	238,7 \pm 53,6	15	
	Antera	328,6 \pm 30,3	142,9 \pm 41,4	15	
<i>M. melanoventer</i>	Forca	307,4 \pm 40,5	435,2 \pm 101,5	15	35,3 \pm 2,5
	Forca-flor	294,3 \pm 46,7	395,2 \pm 126,2	15	
	Antera	293,2 \pm 33,9	188,1 \pm 71,0	15	
	Urucum	269,8 \pm 15,6	408,9 \pm 58,7	10	
	<i>Cassia tora</i>	267,5 \pm 5,9	486,4 \pm 1,3	2	
<i>M. fasciculata</i>	Forca	332,4 \pm 26,9	492,3 \pm 86,9	16	42,5 \pm 2,5
	Forca-flor	275,3 \pm 39,5	376,1 \pm 97,4	15	
	Antera	268,7 \pm 29,1	201,8 \pm 94,9	15	
	Beringela 1ª visita	245,0 \pm 10,1	392,1 \pm 69,7	8	-
	Beringela a partir da 2ª visita	248,8 \pm 12,7	397,6 \pm 91,2	23	-
<i>M. fuliginosa</i>	Forca	316,3 \pm 62,4	224,2 \pm 49,4	15	50,9 \pm 4,6





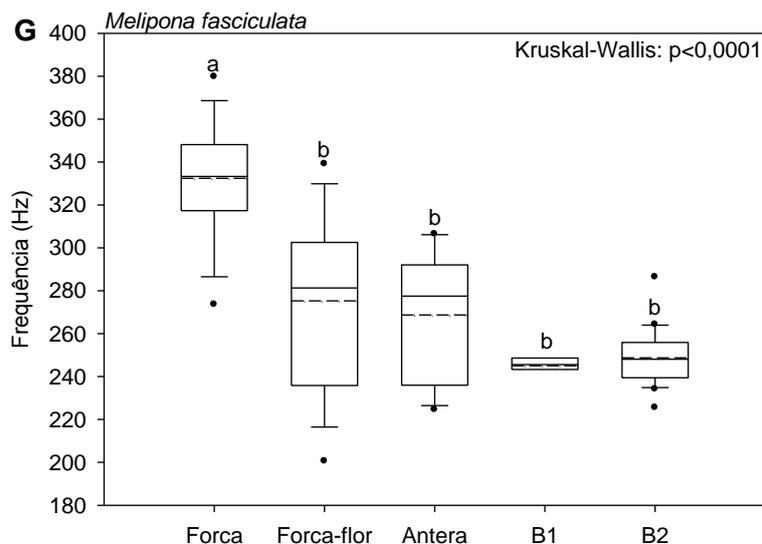
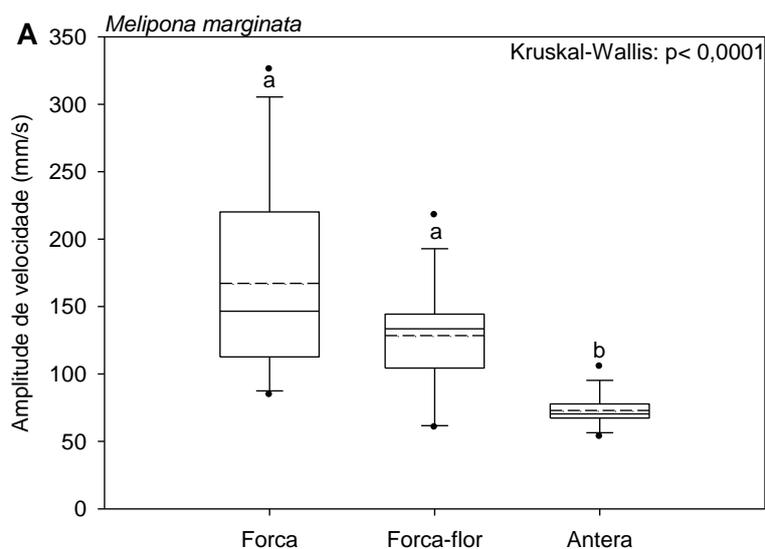
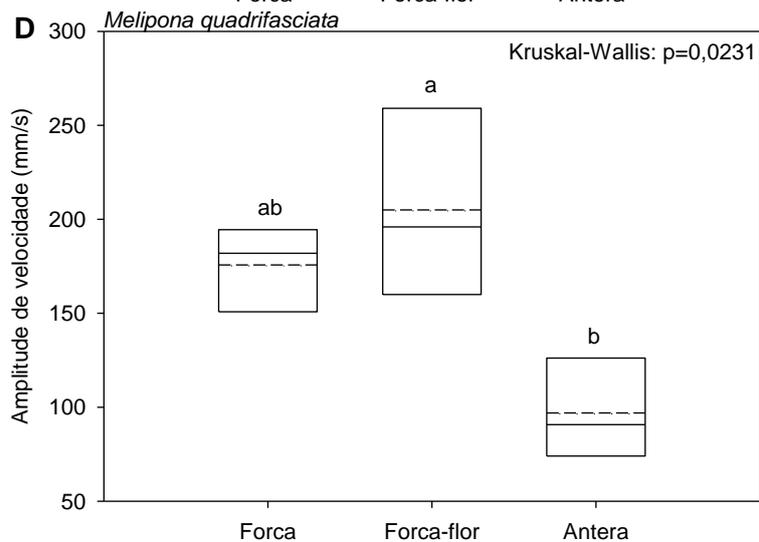
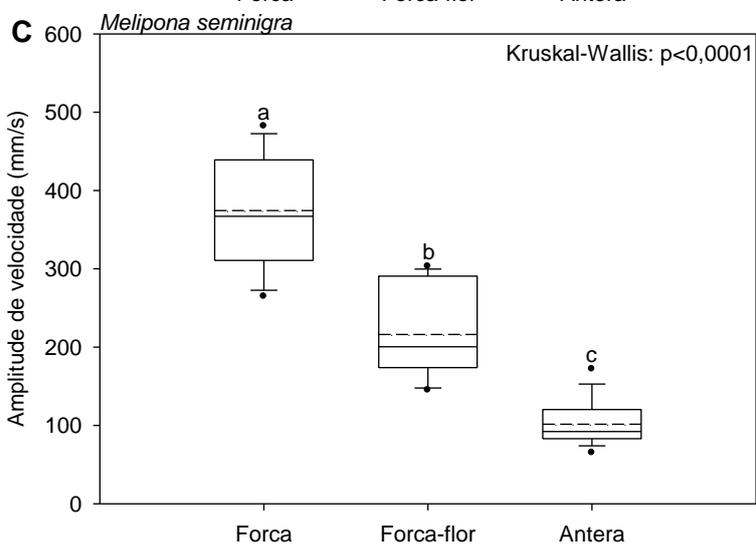
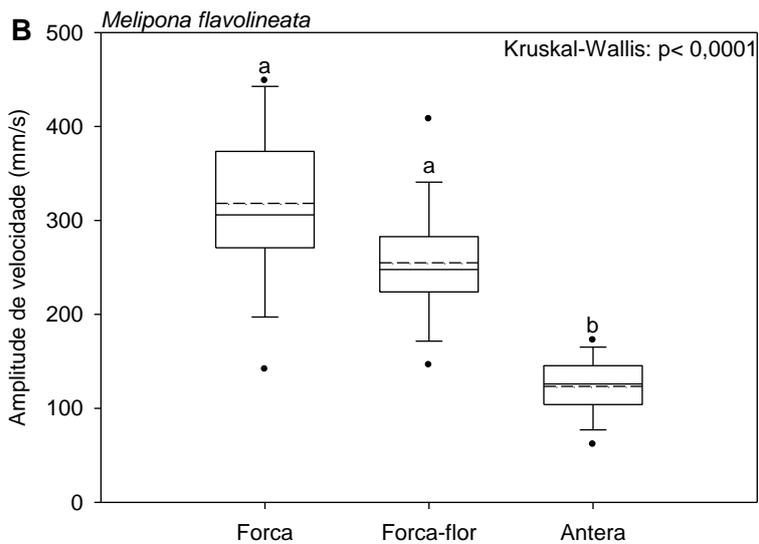


Figura 2.5. Frequência dominante média (Hz) das vibrações do tórax de oito espécies de abelhas sem ferrão em diferentes situações: sistemas de força e força-flor, em flores de *Cassia tora* (Ct), *Bixa orellana* (Ur, urucum), *Solanum melongena* (beringela) durante a primeira visita (B1) e a partir da segunda visita (B2). Também a frequência dominante média das anteras das flores de beringela utilizadas no sistema força-flor. A) *Melipona marginata*; B) *M. flavolineata*; C) *M. seminigra*; D) *M. quadrifasciata anthidioides*; E) *M. scutellaris*; F) *M. melanoventer*; G) *M. fasciculata*. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.





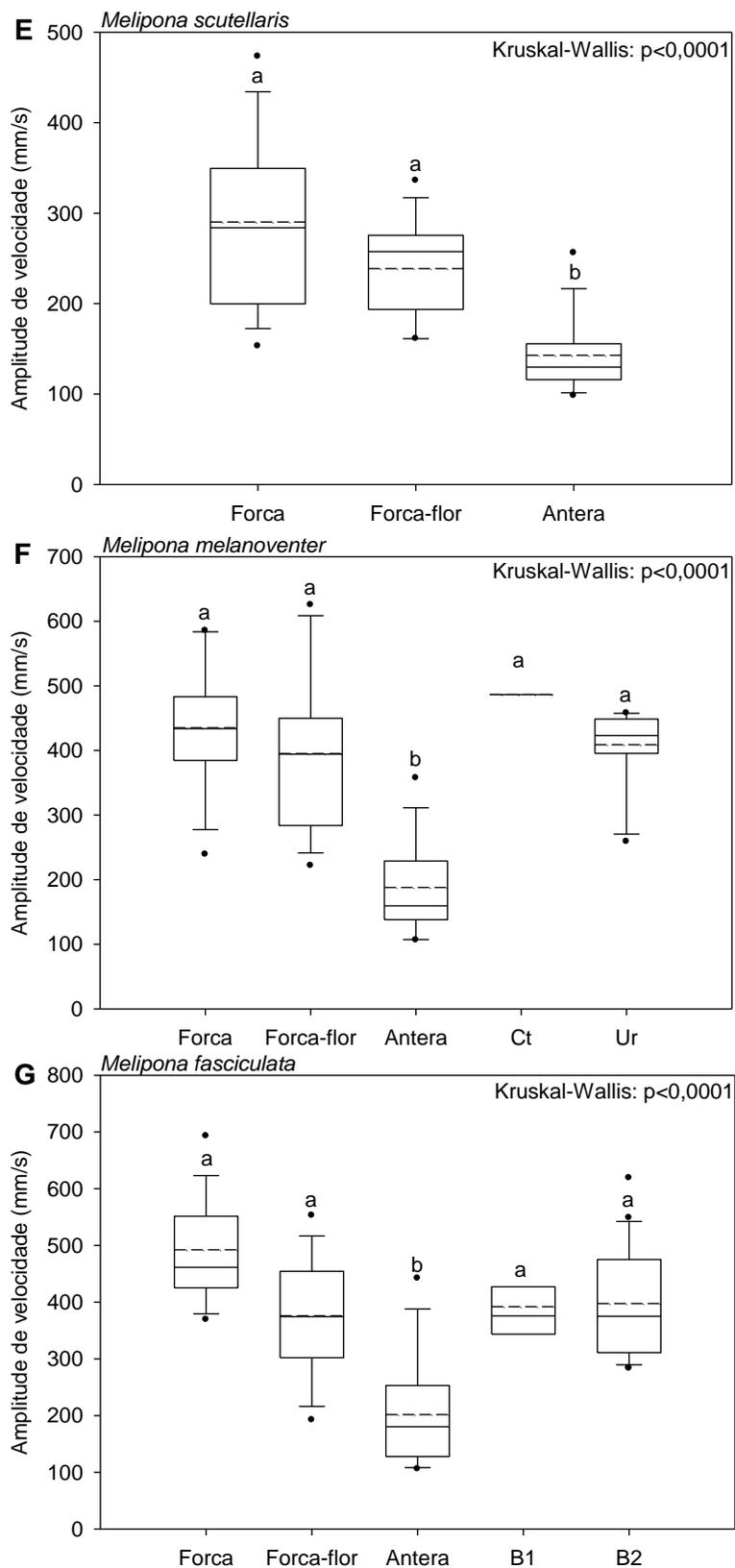


Figura 2.6. Amplitude média de velocidade (mm/s) das vibrações do tórax de oito espécies de abelhas sem ferrão em diferentes situações: sistemas de força e força-flor, em flores de *Cassia tora* (Ct), *Bixa orellana* (Ur, urucum), *Solanum melongena* (beringela) durante a primeira visita (B1) e a partir da segunda visita

(B2). Também a frequência dominante média das anteras das flores de beringela utilizadas no sistema forca-flor. A) *Melipona marginata*; B) *M. flavolineata*; C) *M. seminigra*; D) *M. quadrifasciata anthidioides*; E) *M. scutellaris*; F) *M. melanoventer*; G) *M. fasciculata*. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

A capacidade vibratória das abelhas está correlacionada com seu peso?

O peso médio do tórax das oito espécies de *Melipona* estudadas foi significativamente diferente (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$), exceto entre algumas espécies (método de Dunn, $p > 0,05$; figura 2.7).

Houve diferenças estatísticas entre algumas espécies com respeito à frequência dominante média e a amplitude média de velocidade da vibração realizada nos sistemas forca e forca-flor, assim como nesses dois parâmetros físicos das vibrações das anteras quando vibradas por essas abelhas no sistema forca-flor (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$; método de Dunn, $p < 0,05$; figura 2.8).

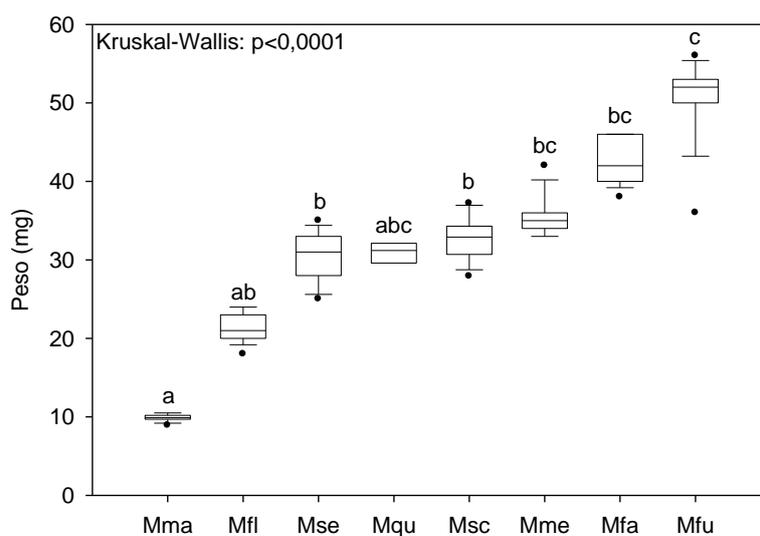


Figura 2.7. Comparação entre o peso médio do tórax (mg) de oito espécies de *Melipona*. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$. Mma = *M. marginata*; Mfl = *M. flavolineata*; Mse = *M. seminigra*; Mqu = *M. quadrifasciata anthidioides*; Msc = *M. scutellaris*; Mme = *M. melanoventer*; Mfa = *M. fasciculata*; Mfu = *M. fuliginosa*. Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal indica a mediana, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

Não houve correlação estatisticamente significativa entre o peso do tórax das abelhas e a frequência dominante da vibração realizada por elas nos sistemas de forca e forca-flor (tabela 2.2). Também não houve correlação estatisticamente significativa

entre o peso do tórax das abelhas e a frequência dominante provocada na antera (tabela 2.2). Entretanto, a amplitude de velocidade dependeu do peso (tabela 2.2), assim como a amplitude de velocidade provocada na antera (tabela 2.2).

A frequência dominante da vibração realizada por Mme nas flores de urucum foi diferente da realizada por Mfa nas flores de beringela (Kruskall-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn, $p < 0,05$; figura 2.9), entretanto, a amplitude de velocidade não diferiu (Kruskall-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn, $p > 0,05$; figura 2.9). A frequência dominante da vibração realizada por Mme nas flores de *C. tora* foi igual à realizada por Mfa nas flores de beringela (Kruskall-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn, $p < 0,05$; figura 2.9), porém, o número de visitas amostrado em *C. tora* foi muito pequeno, o que pode ter interferido nessa comparação.

Tabela 2.2. Coeficientes de correlação de Spearman entre o peso do tórax e a frequência dominante média (FDM) e a amplitude média de velocidade (VM) da vibração da abelha, no sistema força e força-flor, e a frequência dominante média (FDM) e a amplitude média de velocidade (VM) causadas na antera.

	Força	Força-flor	Antera
Peso (mg) vs FDM (Hz)	0.0845 ^{ns} (n=109)	-0.1213 ^{ns} (n=94)	-0.1212 ^{ns} (n=93)
Peso (mg) vs VM (mm/s)	0.2883* (n=109)	0.6825* (n=94)	0.6070* (n=93)

* significativo ao nível de $\alpha = 0,05$

^{ns} não significativo ao nível de $\alpha = 0,05$

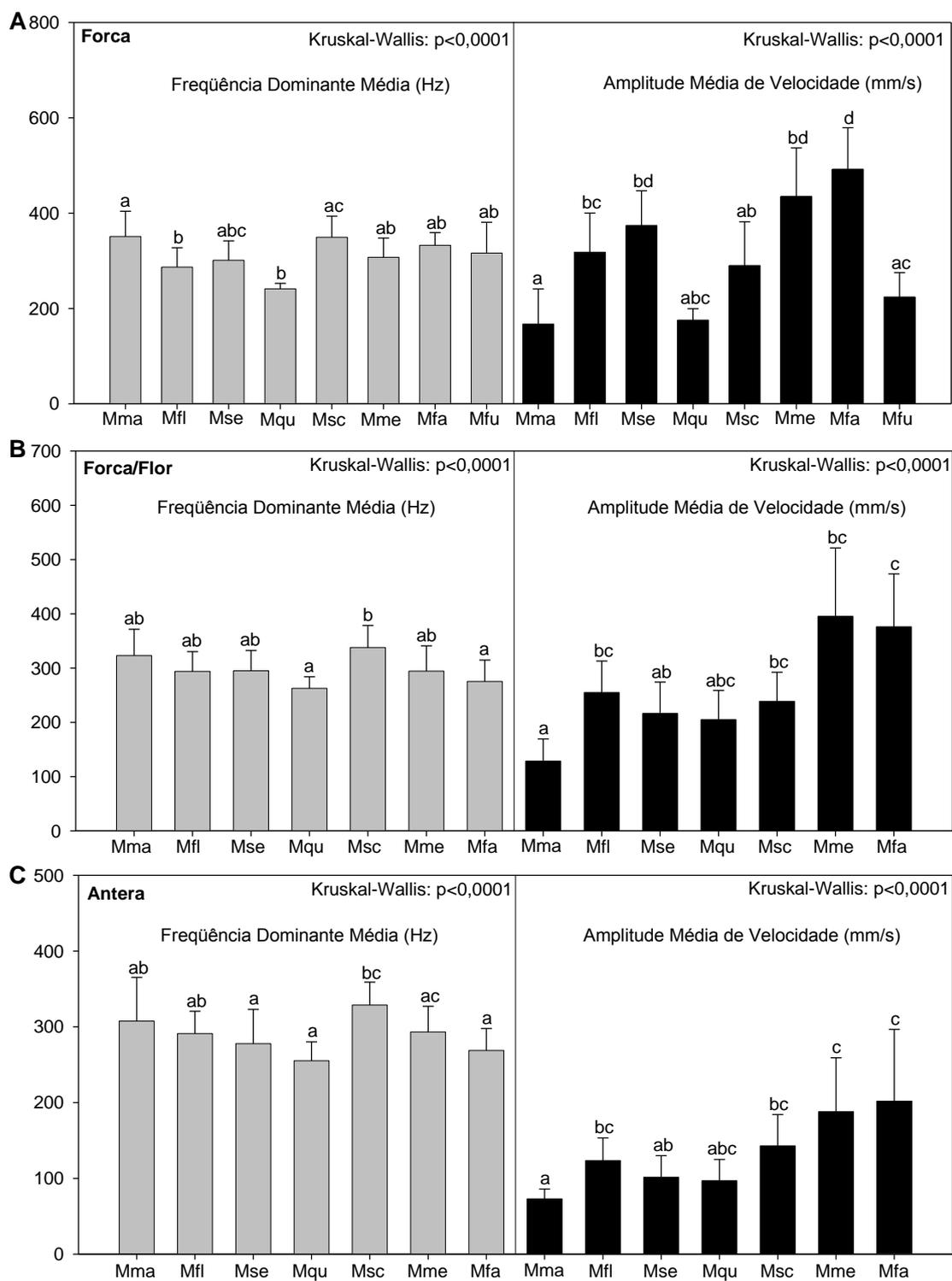


Figura 2.8. Comparação entre a freqüência dominante média (Hz) e a amplitude média de velocidade (mm/s), e seus respectivos desvios padrões (whiskers), das forrageiras das oito espécies de abelhas sem ferrão nos sistemas de força (A) e força-flor (B) e das anteras (C) em que vibraram. Mma = *M. marginata*; Mfl = *M. flavolineata*; Mse = *M. seminigra*; Mqu = *M. quadrifasciata anthidioides*; Msc = *M. scutellaris*; Mme = *M. melanoventer*; Mfa = *M. fasciculata*; Mfu = *M. fuliginosa*. Letras diferentes (a, b, c, d) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn).

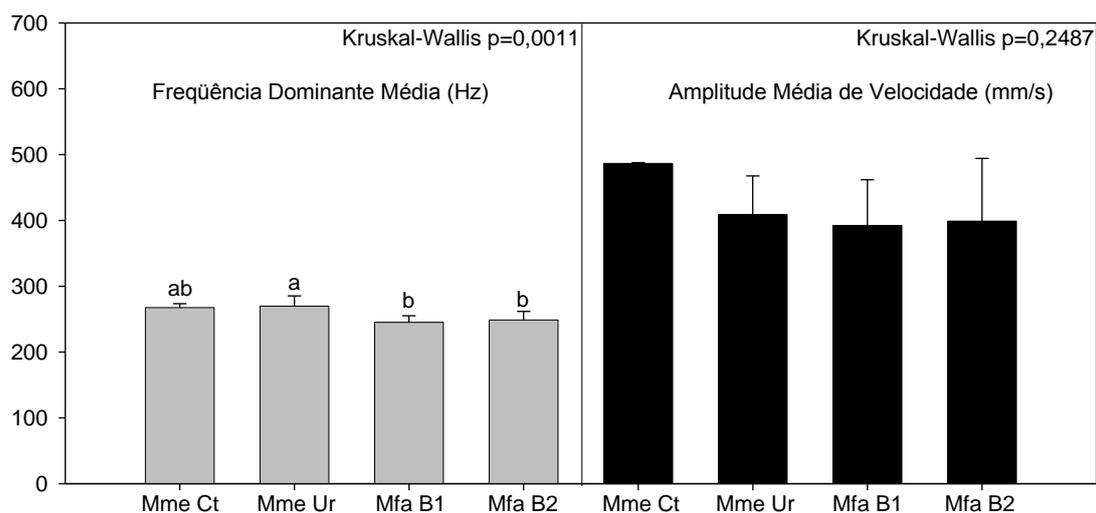


Figura 2.9. Comparação entre a freqüência dominante média e a amplitude média de velocidade da vibração, e seus respectivos desvios padrões (whiskers), das forrageiras de *M. melanoventer* (Mme) durante a polinização de *Cassia tora* (Ct) e de urucum (Ur) e das forrageiras de *M. fasciculata* (Mfa) na primeira visita de flores de beringela (B1) e nas visitas subsequentes (B2). Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn).

Discussão

Ao compararmos a vibração das oito espécies de *Melipona* estudadas no sistema de força com o de força-flor, encontramos resultados estatisticamente iguais em todas as espécies, exceto em *M. fasciculata* que apresentou diferença na freqüência dominante (figura 2.5G) e em *M. seminigra* que apresentou diferença na amplitude de velocidade (figura 2.6C).

Quando as forrageiras de *M. fasciculata* foram submetidas ao sistema de força, suas vibrações diferiram quanto à freqüência dominante das vibrações realizadas nas flores de beringela, porém, a freqüência realizada no sistema força-flor foi igual à realizada naturalmente nas flores (figura 2.5G; tabela 2.1). Já as vibrações das forrageiras de *M. melanoventer* não apresentaram diferenças quando no sistema de força, força-flor e nas flores de *Cassia tora* e urucum (figuras 2.5F e 1.6F; tabela 2.1). Devido às variações encontradas, o sistema de força não é tão apropriado para estimar a freqüência média e a amplitude média de velocidade da vibração das abelhas durante a polinização por vibração quanto o sistema força-flor. Dessa maneira, o sistema força-flor pode ser usado para prever as características físicas da vibração (freqüência dominante e amplitude de velocidade) durante a polinização por vibração, o que corrobora o trabalho de King (1993) e King & Lengoc (1993), que mostraram que a vibração de *Bombus terrestris* durante a captura (“escape buzz”) é similar à produzida durante a polinização de *Actinidia deliciosa* (kiwi).

Ainda é necessário diagnosticar se as espécies de abelhas realizam vibrações com características físicas iguais em diferentes espécies de plantas, mas a avaliação

de *M. melanoventer* nas flores de *Cassia tora* e urucum indicam que as abelhas não realizam vibrações com características físicas diferentes em diferentes espécies de plantas (figuras 2.5F e 2.6F). Conclusão que pode estar equivocada devido ao pequeno número amostral para *C. tora*. Em um capítulo posterior (capítulo 3), mostramos que *Bombus impatiens* realizou vibrações com frequência e velocidade diferentes em distintas espécies de plantas (tomate e beringela), no entanto, não sabemos se é um padrão entre espécies de abelhas. As vibrações produzidas em flores de *Symphytum officinale* por *B. terrestris* apresentaram aceleração menor que em flores de kiwi (King, 1993).

Também é possível que a vibração da abelha varie de acordo com a espécie de planta devido às características da própria planta. Corbet e colaboradores (1988) propõem que as abelhas vibram na mesma frequência que as anteras vibrariam naturalmente (frequência natural) e King & Buchmann (1996) que elas precisam vibrar as flores com frequências maiores que essa frequência natural para retirar o pólen. King (1993) sugere que essa característica física varia porque as dimensões, umidades e quantidade de pólen entre as diferentes espécies de planta variam. Entretanto, essa “frequência natural” foi muito mais baixa para flores de *S. officinale* e kiwi do que as provocadas pelas abelhas nas flores e testes com uma mesa vibratória mostraram que a uma aceleração de 196 m/s^2 , frequências de 50 a 2000 Hz provocaram a saída de pólen das flores, ou seja, uma frequência específica não é necessária (King, 1993). O mesmo foi encontrado por King & Lengoc (1993). King & Buchmann (1996) também constataram uma frequência natural baixa (124 Hz) para os estames em seus estudos com flores de *Solanum laciniatum*. Dessa maneira, é possível que mesmo que as abelhas realizem a mesma vibração em flores de espécies de plantas diferentes, elas sejam eficientes em retirar o pólen. Ainda mais se consideramos que diferentes espécies de abelhas coletam pólen por vibração em diversas espécies de plantas (ver Nunes-Silva *et al*, 2010).

As abelhas diferem nas características físicas de suas vibrações, como frequência e energia, de acordo com o tamanho, visto que a força (F) da vibração é determinada pela aceleração (a) e pela massa (m) dos músculos de vôo ($F=ma$) (Buchmann *et al.*, 1977; Buchmann & Hurley, 1978; Morse, 1981; King & Buchmann, 1995, 1996; Hrnir *et al.*, 2008). Encontramos correlação entre o peso do tórax das abelhas e a amplitude de velocidade das vibrações torácicas, assim como entre o peso torácico e a amplitude de velocidade causada na antera, o que era esperado, visto que a velocidade depende da aceleração ($v=at$, onde t=tempo). No entanto, não encontramos relação entre o peso do tórax e a frequência da vibração da abelha e a causada na antera.

A velocidade das vibrações torácicas também é influenciada pelo deslocamento da vibração que, por sua vez, é limitado pelo tamanho do tórax (Hrnir *et al.*, 2008). Em termo de deslocamento do tórax durante as vibrações, abelhas pequenas não podem vibrar tanto quanto abelhas grandes. Dessa maneira, a correlação entre a amplitude de velocidade e o peso do tórax das abelhas encontrada nesse estudo também pode ser explicada em termos de deslocamento torácico.

Alguns trabalhos sugerem que a velocidade e a aceleração (não calculada nesse estudo) são os parâmetros mais importantes na liberação do pólen da antera (Buchmann *et al.*, 1977; Morse, 1981; King & Buchmann, 1995, 1996). Harder & Barclay (1994) sugerem que o mecanismo de liberação do pólen nas anteras poricidas esteja relacionado à frequência da vibração do visitante, porém, em alguns casos uma frequência específica não foi necessária para causar a ejeção de pólen das anteras (King, 1993; King & Lengoc, 1993). A eficiência na polinização por vibração pode ser semelhante entre as oito espécies de *Melipona* analisadas quanto à capacidade de retirada do pólen, já que além de não encontrarmos diferenças na frequência dominante, muitas espécies apresentaram a amplitude de velocidade estatisticamente igual (figura 2.8). Além disso, o papel da frequência dominante e da amplitude de velocidade da vibração na retirada do pólen ainda é controverso, já que os estudos existentes diferem em suas conclusões. Também é possível que a aceleração e a velocidade das vibrações que as diferentes espécies de abelhas realizam sejam maiores que a requerida pelas plantas, como é o caso da frequência (King, 1993; King & Lengoc (1993); King & Buchmann, 1996). Assim, ainda é necessário determinar a força requerida para retirar o pólen de diferentes espécies de plantas.

Entre as espécies de *Melipona* avaliadas, sabe-se que *Melipona quadrifasciata* (Del Sarto *et al.*, 2005, Bispo dos Santos *et al.*, 2009) é eficiente na polinização de tomates, *M. fasciculata* na polinização de tomates (Pires, 2009) e beringela (Venturieri *et al.*, 2009) e *M. melanoventer* na polinização de urucum (Venturieri & Maués-Venturieri, 1992). Não encontramos diferenças estatísticas nas características físicas das vibrações realizadas por essas abelhas no sistema forca-flor, nem nas vibrações causadas nas anteras das flores de beringela nesse sistema (figura 2.8). Como não encontramos diferenças estatísticas entre essas espécies e a maioria das outras espécies avaliadas no sistema forca-flor (figura 2.8, forca-flor), concluímos que as oito espécies de *Melipona* avaliadas são capazes de produzir vibrações que possibilitam que sejam eficientes na polinização por vibração, já que suas vibrações são similares e que sabemos que *M. quadrifasciata*, *M. fasciculata* e *M. melanoventer* realizam polinização por vibração de forma eficiente. Assim, o potencial de uso das abelhas *Melipona* para a polinização por vibração é grande.

O próximo passo na avaliação de qual espécie de *Melipona* é mais eficiente na polinização de culturas agrícolas, como o tomate e a beringela, é avaliar comparativamente outras características comportamentais, como duração da visita, horário de maior visitação, atração às flores, entre outros fatores que podem interferir em uma polinização eficiente (Klein *et al.*, 2007; Vaissière *et al.*, 2011).

Para esclarecer a importância das características físicas da vibração na liberação do pólen e na produção de frutos é necessário saber, além da física do mecanismo de ejeção de pólen pelas anteras, se as diferentes espécies de abelhas retiram quantidades diferentes de pólen em uma visita e se estas diferenças, se existentes, resultam em uma diferença na qualidade ou quantidade dos frutos produzidos. A deposição de pólen no estigma também deve ser investigada. Outros

aspectos comportamentais, como o padrão temporal de forrageamento (Kevan *et al.*, 2009), a atratividade da flor para os polinizadores (Morse, 2009) e a capacidade de adaptação a espaços fechados, no caso de uso em casas de vegetação (Slaa *et al.*, 2006), devem ser considerados na avaliação da eficiência das diferentes espécies de abelhas na polinização por vibração.

Referências bibliográficas

- ABAK K., OZDOGAN A.O., DASGAN H.Y., DERIN K. & KAFTANOGLU O. 2000. Effectiveness of bumble bees as pollinators for eggplants grown in unheated greenhouses. *Acta Horticulturae*, 514:197-203.
- ABAK K., SARI N., PAKSOY M., KAFTANOGLU O. & YENINAR H. 1995. Efficiency of bumble bees on the yield and quality of eggplants and tomato grown in unheated greenhouses. *Acta Horticulturae*, 512: 268-274.
- AIZEN M.A., GARIBALDI L.A., CUNNINGHAM S.A. & KLEIN A.M. 2009. How much does agriculture depends on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Annals of Botany*, 103:1579–1588.
- BANDA H.J. & PAXTON R.J. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bees. *Acta Horticulturae*, 288:194-198.
- BISPO DOS SANTOS S.A., ROSELINO A.C., HRNCIR M. & BEGO L.R. 2009. Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). *Genetics and Molecular Research*, 8:751-757.
- BUCHMANN S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds) *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Scientific and Academic Editions, New York, Van Nostrand Reinhold, 73-113.
- BUCHMANN S.L. 1985. Bees use vibration to aid pollen collection from non-poricidal flowers. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 58(3):517-525.
- BUCHMANN S.L. & HURLEY J.P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in angiosperms. *Journal of Theoretical Biology*, 72:639-657.
- BUCHMANN S.L., JONES C.E. & COLIN L.J. 1977. Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *Solanum xantii* (Solanaceae) in Southern California. *The Wasmann Journal Biology*, 35:1-25.
- CAUICH O., QUEZADA-EUÁN J.J.G., MACIAS-MACIAS J.O., REYES-OREGEL V., MEDINA-PERALTA S. & PARRA-TABLA V. 2004. Behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in subtropical México. *Journal of Economic Entomology*, 97(2):172-179.

- CORBET S.A., CHAPMAN H. & SAVILLE N. 1988. Vibratory collection and flower form: bumble-bees on *Actinidia*, *Symphytum*, *Borago* and *Polygonatum*. *Functional Ecology*, 2:147-155.
- CRUZ D.O., FREITAS B.M., SILVA L.A., SILVA E.M.S. & BOMFIM I.G.A. 2005. Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(12): 1197-1201.
- DAG A. & KAMMER Y. 2001. Comparison between the effectiveness of honey bee (*Apis mellifera*) and bumble bee (*Bombus terrestris*) as pollinators of greenhouse sweet pepper (*Capsicum annuum*). *American Bee Journal*, 141:447-448.
- DEL SARTO M.C.L., PERUQUETTI R.C. & CAMPOS L.A.O. 2005. Evaluation of the neotropical bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 98(2):260-266.
- DOGTEROM M.H., MATTEONI J.A. & PLOWRIGHT R.C. 1998. Pollination of greenhouse tomatoes by the North American *Bombus vosnesenski* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(1):71-75.
- FREE J.B. 1975. Pollination of *Capsicum frutescens* L., *Capsicum annuum* L. and *Solanum melongena* L. (Solanaceae) in Jamaica. *Tropical Agriculture*, 52(4):353-357.
- FREE J.B. 1993. *Insect pollination of crops*. 2ed. London, Academic Press, 684p.
- GEMMILL-HERREN B. & OCHIENG A.O. 2008. Role of native bees and natural habitats in eggplant (*Solanum melongena*) pollination in Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 127(1-2): 31-36.
- HARDER L.D. & BARCLAY R.M.R. 1994. The functional significance of poricidal anthers and buzz pollination: controlled pollen removal from *Dodecatheon*. *Functional Ecology*, 8(4):509-517.
- HARTER B., LEISTIKOW C., WILMS W., TRUYLIO B. & ENGELS W. 2002. Bees collecting pollen from flowers with poricidal anthers in a south Brazilian *Araucaria* forest: a community study. *Journal of Apicultural Research*, 40 (1-2):9:16.
- HOGENDOORN K, STEEN Z. & SCHWARZ M.P. 2000. Native Australian carpenter bees as a potential alternative to introducing bumble bees for tomato pollination in greenhouses. *Journal of Apicultural Research*, 39(1-2):67-74.
- HOGENDOORN K, GROSS C.L., SEDGLEY M. & KELLER M.A. 2006. Increased tomato yield through pollination by native Australian *Amegilla chlorocyanea* (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Economic Entomology*, 99(3):829-833.
- HRNCIR M., GRAVEL A.I., SCHORKOPF D.L.P., SCHMIDT V.M., ZUCCHI R. & BARTH F.G. 2008. Thoracic vibrations in stingless bees (*Melipona seminigra*): resonances of the thorax influence vibrations associated with flight but not those associated with sound production. *Journal of Experimental Biology*, 211:678-685.

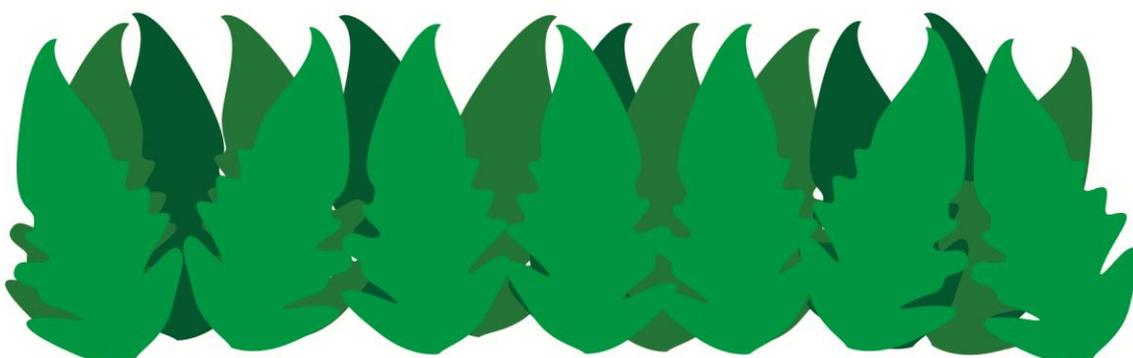
- JARLAN A., OLIVEIRA D. & GINGRAS J. 1997. Pollination of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) in greenhouse by the syrphid fly *Eristalis tenax* L. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 437:335-340.
- KEVAN P.G., COOPER E., MORSE A., KAPONGO J.P., SHIPP L. & KHOSLA S. 2009. Measuring foraging activity in bumblebee nests: a simple nest-entrance trip recorder. *Journal of Applied Entomology*, 133:222-228.
- KEVAN P.G., STRAVER W.A., OFFER M. & LAVERTY T.M. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bumble bees in Ontario. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, 122:15-19.
- KING M.J. 1993. Buzz foraging mechanism in bumble bees. *Journal of Apicultural Research*, 32(1):41-49.
- KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1995. Bumble bee-initiated vibration release mechanism of *Rhododendron* pollen. *American Journal of Botany*, 82(11):1407-1411.
- KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1996. Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology*, 10:449-456.
- KING M.J. & LENGOC L. 1993. Vibratory pollen collection dynamics. *Transactions of the ASAE*, 36(1):135-140.
- KLEIN A.M., VAISSIÈRE B.E., CANE J.H., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A., KREMER C. & TSCHARNTKE T. 2007. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274(1608):303-313.
- MCGREGOR S.E. 1976. *Insect pollination of cultivated crop plants*. 1 ed. Washington, DC, USDA, 411p.
- MICHENER C.D. 1962. An interesting method of pollen collecting by bees from flowers with tubular anthers. *Revista de Biologia Tropical*, 10(2):167-175.
- MORANDIN L.A., LAVERTY T.M. & KEVAN P.G. 2001a. Bumble bee (Hymenoptera: Apidae) activity and pollination levels in commercial tomato greenhouses. *Journal of Economic Entomology*, 94(2):462-467.
- MORANDIN L.A., LAVERTY T.M. & KEVAN P.G. 2001b. Effect of bumble bee (Hymenoptera: Apidae) pollination intensity on the quality of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 94(1): 172-179.
- MORSE A. 2009. Floral scent and pollination of greenhouse tomatoes. Universidade de Guelph, Guelph, Dissertação de Mestrado, 130p.
- MORSE P.M. 1981. *Vibration and Sound*. New York, American Institute of Physics of the Acoustical Society of America, 433 p.
- NUNES-SILVA P., HRNCIR M. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. 2010. A polinização por vibração. *Oecologia Australis*, 14(1):140-151.

- PALMA G., QUEZADA-EUÁN J.J.G., REYES-OREGEL V., MELÉNDEZ V. & MOO-VALLE H. 2008. Production of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) using *Nannotrigona perilampoides*, *Bombus impatiens* and mechanical vibration (Hym.: Apoidea). *Journal of Applied Entomology*, 132:79-85.
- PIRES N.V.C.R. 2009. Efeitos de uma alimentação artificial protéica para a abelha-indígena-sem-ferrão *Melipona fasciculata* Smith, 1858 (Apidae, Meliponina) sobre a produção de sexuais, longevidade e multiplicação de colônias, e sua adaptação a forrageio em casas de vegetação. Universidade Federal do Pará, Belém, Dissertação de Mestrado, 69p.
- RAW A. 2000. Foraging behaviour of wild bees at hot pepper flowers (*Capsicum annum*) and its possible influence on cross pollination. *Annals of Botany*, 84:487-492.
- SLAA E.J., SANCHEZ L.A., MALAGODI-BRAGA K.S. & HOFSTEDE F.E. 2006. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37:293-315.
- SERRANO A.R. & GUERRA-SANZ J.M. 2006. Quality fruit improvement in sweet pepper culture by bumblebee pollination. *Scientia Horticulturae*, 110:160-166.
- SHIPP J.L., WHITFIELD G.H. & PAPADOPOULOS A.P. 1994. Effectiveness of bumble bee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera: Apidae), as a pollinator of greenhouse sweet pepper. *Scientia Horticulturae*, 57:29-39.
- VAISSIÈRE B.E., FREITAS B.M. & GEMMILL-HERREN B. 2011. *Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use*. Roma, FAO, 81 p.
- VENTURIERI G.C. & MAUÉS-VENTURIERI M. 1992. Insetos visitantes e seu comportamento em inflorescências de urucuzeiro (*Bixa orellana*) em Belém – Pará. In: Anais da I Reunião Técnico-Científica sobre o Melhoramento Genético do Urucuzeiro, Belém, Embrapa-CPATU, 82-89.
- VENTURIERI G.C., PIRES N.V.C.R. & CONTRERA F.A.L. 2009. Management of stingless bee, *Melipona fasciculata*, for pollination of solanaceous crops in greenhouses. In: Proceedings of 41st Apimondia, Montpellier.
- WILLE A. 1963. Behavioral adaptations of bees for pollen collecting from *Cassia* flowers. *Revista de Biologia Tropical*, 11(2):205-210.



Capítulo 3:

O comportamento da abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* (Apidae, Meliponini) nas flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) e as conseqüências para a polinização.



Resumo

Estudar o comportamento dos polinizadores elucidada os mecanismos de polinização e indica quais polinizadores são mais eficientes. Esse conhecimento é importante para o desenvolvimento de técnicas de manejo mais eficientes para polinização de culturas. O objetivo do presente estudo foi analisar: (1) o comportamento de *Melipona fasciculata* durante as visitas às flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae), (2) o padrão de forrageamento colonial dessa espécie de meliponíneo em casa de vegetação e suas conseqüências para a polinização das flores de beringela, e (3) a qualidade e a produção de frutos produzidos usando esta espécie como polinizadora. Os resultados de nosso estudo demonstram que uma única visita de *M. fasciculata* a uma flor é suficiente para promover a polinização. O comportamento das forrageiras ao visitar as flores com estilete longo foi igual ao nas flores de estilete curto em relação à duração total da visita (DT), o número de *buzzes* realizados (NB) e o tempo que a abelha permaneceu pousada na flor (TP). NB e TP influenciaram o número de tubos polínicos formados, mas não o número de grãos de pólen depositados no estigma. As flores de estilete longo apresentaram o mesmo número de grãos de pólen que as de estilete curto, porém, as forrageiras retiraram menos pólen das flores de estilete curto e realizaram vibrações com frequência principal e amplitude de velocidade diferentes nos dois tipos de flor. O padrão de forrageamento de *M. fasciculata* não foi alterado no interior da casa de vegetação e foi adequado à biologia floral da beringela. A produção de frutos e o peso dos frutos quando as flores foram polinizadas por *M. fasciculata* foi maior do que no grupo controle (sem visitas). O peso dos frutos também foi superior ao dos frutos produzidos com polinização manual. A polinização cruzada parece ter contribuído para um aumento no peso dos frutos. A partir de nossos resultados, concluímos que *M. fasciculata* é eficiente na polinização de beringela e pode ser utilizada com sucesso na polinização dessa cultura agrícola.

Abstract

Studying the behavior of pollinators elucidates pollination mechanisms and indicates which pollinators are more efficient. This knowledge is important for the development of more efficient crop-pollination management techniques. The aim of the present study was to analyze: (1) the behavior of *Melipona fasciculata* during the visits to eggplant flowers (*Solanum melongena* L., Solanaceae), (2) the colony foraging pattern of this meliponine species in greenhouses and its consequences for the pollination of eggplant flowers, and (3) fruit quality and production using this bee species as pollinator. The results of our study demonstrate that a single flower visit by *M. fasciculata* is sufficient to promote pollination. The behavior of the foragers on long-styled flowers was the same as on short-styled flowers with regard to total visit duration (TD), average number of *buzzes* performed (NB) and average time the bees remained on the flower (TF). NB and TF influenced the number of pollen tubes formed, but not the number of pollen grains deposited on the stigma. Long-styled flowers presented the same number of pollen grains as short-styled ones, however,

foragers removed less pollen from short-styled flowers and performed vibrations with different main frequency and velocity on the two types of flower. The colony foraging pattern of *M. fasciculata* was not altered inside the greenhouse and was adequate to the floral biology of eggplant. Fruit production and fruit weight when flowers had been pollinated by *M. fasciculata* was higher than in our control group (no visits). Fruit weight was also higher than fruits produced by hand pollination. Cross pollination seems to contribute for an increase in fruit weight. From our results, we conclude that *M. fasciculata* is efficient in eggplant pollination and can be used with success in the pollination of this agricultural crop.

Introdução

A polinização é indispensável na manutenção da diversidade e abundância dos organismos e no funcionamento dos ecossistemas (Constanza *et al.*, 1997; Kevan & Viana, 2003), visto que os polinizadores são essenciais para a reprodução de cerca de 87,5% das plantas com flores (Ollerton *et al.*, 2011), e assim sustentam as populações de plantas das quais muitos outros animais utilizam como alimento e abrigo. Além disso, cerca de 75% das culturas agrícolas dependem da polinização animal, ou seja, é também essencial para a produção de alimentos (Shepherd *et al.*, 2003). O papel dos polinizadores na agricultura está cada vez mais evidente, visto que a agricultura tem se tornado mais dependente dos polinizadores, tanto nos países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (Gallai *et al.*, 2009; Vaissière *et al.*, 2009). Entre os polinizadores bióticos, as abelhas constituem-se nos principais (Shepherd *et al.*, 2003; Ricketts *et al.*, 2008). No mundo, para a polinização agrícola são utilizadas predominantemente *Apis mellifera* (Slaa *et al.*, 2006; Klein *et al.*, 2007) e algumas espécies de *Bombus*, principalmente *B. terrestris* e *B. impatiens* para a polinização de tomates (Velthuis & van Doorn, 2006).

Bombus se destaca na polinização de tomate porque essa espécie de planta é uma solanácea, como a beringela e o jiló, e essas espécies requerem polinização por vibração (Raw, 2000), a qual não é realizada pela abelha *Apis mellifera* (Buchmann, 1983). Nesse tipo de polinização, para retirar o pólen das anteras poricidas, as abelhas agarram as anteras (ou estames), vibram os músculos torácicos e as vibrações produzidas são transmitidas às anteras causando a expulsão do pólen, o qual geralmente é depositado na parte ventral da abelha (Buchmann, 1978, 1983).

No Brasil, há somente sete espécies de *Bombus* que, apesar de serem abundantes em todo país, não são criadas para polinização (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 2006). A introdução de animais exóticos pode trazer conseqüências graves aos ecossistemas (Coblentz, 1990), assim, espécies nativas de abelhas devem ser consideradas para o uso na polinização (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 2006).

Estudos têm sido feitos para avaliar a eficiência e a potencialidade de diferentes espécies de abelhas sem ferrão na polinização de diferentes culturas agrícolas, em campo aberto e em casas de vegetação, porém o conhecimento sobre esse tópico no país ainda é pequeno (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 2006; Slaa *et al.*, 2006). Dessa forma, como apontado por Klein e colaboradores (2007), estudos comparativos sobre a produção de sementes e de frutos com o controle do acesso dos

polinizadores às flores fornecem dados importantes para a identificação de espécies polinizadoras chaves.

No caso das solanáceas, alguns estudos mostraram que as abelhas sem ferrão são polinizadores eficientes, como de tomate (*Melipona quadrifasciata*: Del Sarto *et al.*, 2005, Bispo dos Santos *et al.*, 2009; *Melipona fasciculata*: Pires, 2009; *Nannotrigona perilampoides*: Cauich *et al.*, 2004, Palma *et al.*, 2008) e beringela (*M. fasciculata*: Venturieri *et al.*, 2009). No entanto, a utilização de abelhas sem ferrão na polinização de culturas agrícolas é praticamente inexistente (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Imperatriz-Fonseca *et al.*, 2006), apesar de existirem técnicas de manejo para algumas espécies e geralmente não serem agressivas (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 2006; Slaa *et al.*, 2006). Um dos motivos é a indisponibilidade de colônias em larga escala (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006).

A beringela é uma solanácea produzida principalmente no Sudeste, sendo que o maior Estado produtor é São Paulo. Sua produção perfaz somente cerca de 1,3% do total da produção no Brasil e 3,2% no estado de São Paulo em relação ao total da produção de hortícolas, no entanto, seu consumo tem crescido e, como é um produto produzido por pequenos produtores, se torna importante para esse setor (Anefalos *et al.*, 2008). É uma espécie altamente auto-compatível (revisto em Kowalska, 2008) e a disposição dos órgãos feminino e masculino de suas flores permite que ela se auto polinize (Chen, 2001). No entanto, mesmo sendo auto polinizada, a produção de beringela é maior quando há visitas por abelhas (Amoako & Yeboah-Gyan, 1991; Abak *et al.*, 1995, 2000; revisto em Kowalska, 2008; Gemmill-Herren & Ochieng, 2008; Venturieri *et al.*, 2009; Montemor & Malerbo-Souza, 2009), que as visitam para obter pólen, visto que não há produção de néctar (McGregor, 1976).

A beringela apresenta heterostilia (figura 3.1 e 3.2), ou seja, as flores podem apresentar o estigma abaixo do nível das anteras (estilete ou pistilo longo – figura 3.1), no mesmo nível (estilete ou pistilo médio), ou ser rudimentar (estilete ou pistilo curto – figura 3.2), sendo que o comprimento do pistilo varia de acordo com a idade da planta, a temperatura ambiente e a variedade (Kowalska, 2008). Apesar de haver diferenças na fertilidade do estigma das duas formas, não há diferença entre a quantidade de pólen presente em flores de estilete longo e curto (Rylski *et al.*, 1984).

Um dos primeiros passos para promover a conservação dos polinizadores, é incentivar estudos sobre as relações entre polinizadores e plantas economicamente importantes, o que inclui a análise do papel ecológico e econômico dos polinizadores e informações chave como o efeito da polinização na produção de frutos e sementes (Primack, 1993; Torchio, 1994; Allen-Wardell *et al.*, 1998).



Figura 3.1. Flores de beringela (*Solanum melongena*) de estilete longo.

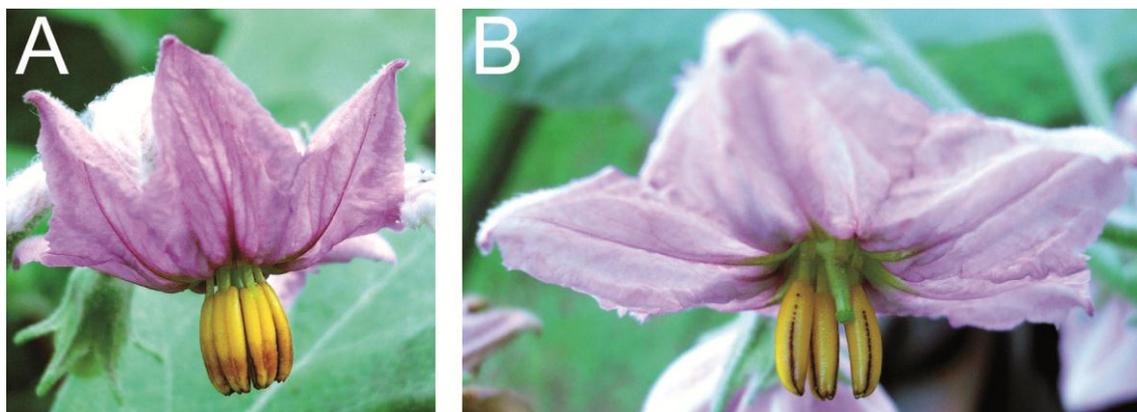


Figura 3.2. Flores de beringela (*Solanum melongena*) de estilete curto. A) notar as marcas necróticas (manchas marrons) deixadas pelas abelhas após a visita. B) Anteras foram retiradas para visualização do pistilo.

Dessa forma, considerando que o estudo do comportamento das abelhas durante a polinização pode revelar espécies com potencial uso na agricultura, o objetivo principal desse estudo foi analisar o comportamento de *M. fasciculata* durante as visitas às flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) em casa

de vegetação e as conseqüências para a polinização dessa espécie de planta. Para isso foi necessário: (1) verificar se quando uma flor de beringela é visitada várias vezes por *M. fasciculata* o número de grãos de pólen depositados no estigma e de tubos polínicos no estilete das flores são maiores do que quando recebem uma única visita e (2) verificar se há diferença no comportamento das forrageiras ao visitar flores com estiletos curtos e longos; (3) se a quantidade de pólen depositada no estigma e o número de tubos polínicos formados no estilete dependem do comportamento da abelha na flor (tempo que a abelha permanece pousada na flor e do número de *buzzes* realizados por ela); (4) verificar se há correlação entre o número de grãos de pólen retirados de uma flor em uma única visita e as características físicas (frequência dominante e da amplitude de velocidade) da vibração realizada pela forrageira; (5) determinar se as abelhas alteram o padrão de forrageamento no interior da casa de vegetação e verificar se esse padrão é adequado à biologia floral da beringela; (6) verificar se a polinização por essa espécie de abelha aumenta a quantidade e a qualidade dos frutos produzidos.

Material e métodos

Local e período de estudo:

O estudo foi realizado no departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (SP) do início de agosto (transplante das mudas) ao final de dezembro (retirada da colônia da casa de vegetação) de 2009.

A casa de vegetação (figura 3.3) onde os experimentos foram realizados possui 6,4m x 9m (área = 57,6m²) e altura máxima de 3,5m. A cobertura é de filme de polietileno transparente com espessura de 150 micras e as laterais fechadas com tela de sombreamento (malha para 50%), ambos com tratamento contra raios ultravioleta.

Ao longo do experimento havia de 48 a 50 plantas de beringela (*Solanum melongena* L. var. Embu) na casa de vegetação (figura 3.3). Devido a problemas com pulgões, algumas plantas foram removidas do local.

Polinização manual e tratamentos:

Os tratamentos foram realizados utilizando-se de polinização manual. Esse procedimento foi realizado da seguinte maneira: as anteras eram retiradas, colocadas em um tubo eppendorf e agitadas para liberar o pólen. O pólen era coletado com a ponta de um palito e aplicado no estigma de forma a cobri-lo. Um palito e um tubo diferente foram utilizados para cada flor. Esse procedimento sempre foi realizado na parta da manhã, entre 8:00 e 12:00.

Realizamos os seguintes tratamentos:

1. Autogamia (A): polinização manual com pólen da mesma flor;
2. Geitonogamia (G): polinização manual com pólen de outra flor da mesma planta;

3. Polinização cruzada (PC; xenogamia): polinização manual com pólen de uma flor de outra planta;
4. Polinização por *Melipona fasciculata* (Mf): flores visitadas livremente pelas forrageiras.

O grupo controle (C) foi composto de flores que não receberam nenhum dos tratamentos acima e não foram manipuladas, apenas marcadas com fita para futura identificação.

Os tratamentos de um a três e o grupo controle foram realizados no período anterior (outubro e novembro) à introdução das abelhas (dezembro).

Introdução da colônia de abelha:

Uma colônia de *Melipona fasciculata* foi utilizada e introduzida cerca de 90 dias após o transplante das plantas para os vasos no interior da casa de vegetação. Essa colônia permaneceu cerca de um mês no local e recebeu alimentação (mel puro de *Apis mellifera*) a cada 15 dias, visto que as flores de beringela forneciam somente pólen.

Padrão de forrageamento:

O padrão de forrageamento (coleta de néctar, pólen, barro, resina, retirada de lixo e número de abelhas entrando e saindo) da colônia de *M. fasciculata* foi observado durante seis dias na semana anterior à sua transferência para a casa de vegetação e durante seis dias a partir do dia seguinte ao início da visitação das flores pelas forrageiras, por cinco minutos por hora. Além disso, a frequência de visitas nas plantas foi observada através de um transecto em todas as fileiras de plantas realizado andando vagarosamente entre as fileiras por 5 minutos e contando as visitas observadas. Também foi realizada a contagem do número de abelhas visitando as flores de uma planta (média de flores por planta do experimento: 6 ± 1) por cinco minutos por hora. Todas essas observações foram feitas de 6:00 às 18:00.

Análise do número de grãos de pólen no estigma e de tubos polínicos no estilete, e filmagem do comportamento das abelhas:

Expomos 16 flores de beringela previamente ensacadas à visitação por oito horas e 42 flores a uma visita, quando as ensacamos novamente. Todas as flores nesse tratamento possuíam estilete longo, visto que as flores de estilete curto possuem baixa taxa de frutificação (resultados desse estudo; Kowalska, 2008) e já foi demonstrado que não há germinação do pólen no estigma dessas flores e crescimento de tubos polínicos no estilete (Rylski *et al.*, 1984). Filmamos as visitas únicas e as analisamos quanto à duração total da visita, ao tempo de pouso na flor e ao número de *buzzes* realizados pelas abelhas. Uma visita começava quando a abelha pousava na flor e terminava quando ia embora ou começava a visitar outra flor. Durante uma visita as abelhas realizavam vôos de limpeza. O tempo de pouso na flor foi calculado subtraindo o tempo dos vôos de limpeza da duração total da visita. Visitas únicas a 14

flores de estilete curto também foram filmadas e analisadas em relação aos mesmos parâmetros.

Após 24h e 48h, coletamos os pistilos das flores com estilete longo, armazenamos em álcool 70% e os submetemos à técnica de fluorescência posteriormente (Martin, 1959). Os primeiros pistilos coletados após 48h da polinização não apresentaram mais tubos polínicos no estilete, dessa maneira, somente as amostras coletadas após 24h foram utilizadas. Essa análise foi realizada no Laboratório de Morfologia Vegetal e Imagem (LAMOVI – IB, Universidade Federal de Uberlândia). Como os estiletos das flores de beringela eram muito grossos, impossibilitando a maceração do tecido necessária para corá-lo, esses foram seccionados ao meio e metade foi analisada. Analisamos o número de grãos de pólen presentes no estigma e de tubos polínicos formados no estilete. O número total foi estimado multiplicando o número de grãos de pólen no estigma e de tubos polínicos presentes no estilete por dois.

Gravação da vibração das abelhas e contagem do número de grãos de pólen restantes nas flores:

Para a gravação da vibração da forrageira durante a polinização, uma flor não visitada anteriormente foi fixada a um tripé (figura 3.4a). O vibrômetro a laser era posicionado abaixo da flor, sobre uma mesa (figura 3.4b). As vibrações foram gravadas com o programa Soundforge 7.0 e analisadas posteriormente com o programa SpectraPro 3.32 quanto à frequência dominante (Hz) e à amplitude de velocidade (mm/s). As vibrações realizadas pelas abelhas durante a primeira visita foi gravada em trinta flores de estilete longo e em vinte flores de estilete curto. Após a visita, as anteras da flor foram armazenadas em 1 ml de álcool 70% para a quantificação posterior do pólen restante na antera. As anteras de 15 flores de estilete longo e 14 flores de estilete curto nunca visitadas foram coletadas e também armazenadas em 1 ml de álcool 70% para a quantificação posterior do pólen total presente em uma flor (controle), para estimar quanto pólen uma forrageira é capaz de retirar em uma visita.

A preparação das anteras para a contagem de pólen foi realizada no laboratório do Prof. Dr. Peter Kevan (*Applied and Anthecology Laboratory - Department of Environmental Ecology*) na Universidade de Guelph (Ontario, Canadá). A contagem de pólen foi realizada com um contador de partículas (MultisizerT 3 COULTER COUNTER®) do laboratório do Prof. Dr. Brian Husband do Departamento de Biologia Integrativa (*Department of Integrative Biology*) da Universidade de Guelph. A quantidade total de pólen contido em 15 ml de solução salina própria para analisar a amostra no contador foi estimada a partir da contagem do pólen em três sub amostras de 0,5 ml cada. A média do tamanho dos grãos de pólen também foi obtida nas três sub amostras.



Figura 3.3. Plantas de beringela na casa de vegetação na FFCLRP-USP.

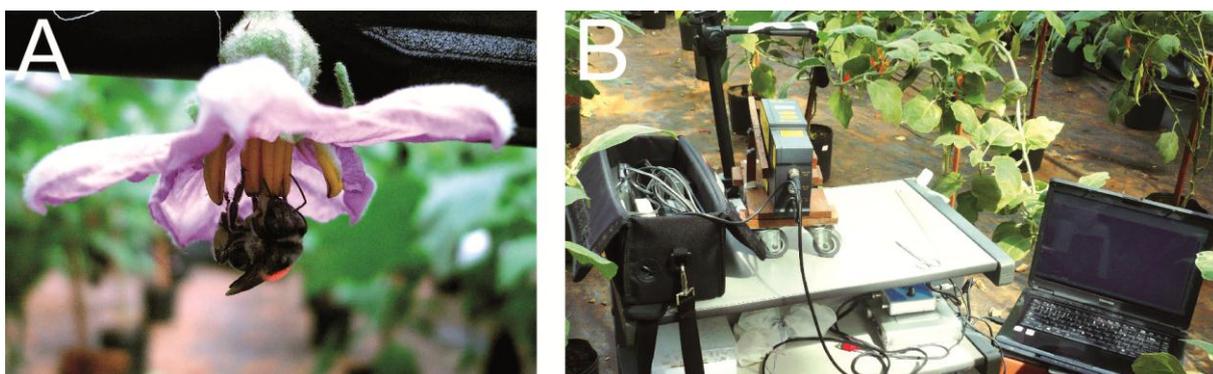


Figura 3.4. Gravação da vibração de *Melipona fasciculata* durante a polinização de beringela. A) Flor no tripé; o ponto vermelho no tórax da abelha é o raio laser. B) Todo o equipamento.

Análise dos dados

Nas comparações entre dois grupos independentes (exemplo: número de grãos de pólen em flores de beringela não visitadas e visitadas uma vez) foi utilizado o teste de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) e de mais de dois grupos independentes o teste de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$) e o método de Dunn para comparação posterior dos pares ($\alpha=0,05$). Análise da vibração: as médias da frequência dominante (Hz) e da amplitude de velocidade (mm/s) dos pulsos vibratórios de cada abelha foram calculadas (médias de 16 a 142 pulsos por abelha) e a partir desses valores a média para a espécie (para detalhes ver capítulo 2, figura 2.4). Todas as correlações foram avaliadas utilizando o teste de correlação de Spearman ($\alpha=0,05$).

As análises foram realizadas nos programas BioEstat, Statistica e Sigma Plot.

Resultados

Relação entre o número de grãos de pólen depositados no estigma e o número de tubos polínicos no estilete flores de beringela e o número de visitas de M. fasciculata.

Não houve diferença estatisticamente significativa (Mann-Whitney, $p > 0,05$; figura 3.5) entre o número médio de grãos de pólen depositados no estigma de flores de estilete longo em uma visita (2.662 ± 1.355 , $n=18$) e em várias (3.284 ± 1.902 , $n=15$) e entre o número médio de tubos polínicos formados no estilete (uma visita= 718 ± 175 , $n=10$; várias visitas= 626 ± 151 , $n=16$).

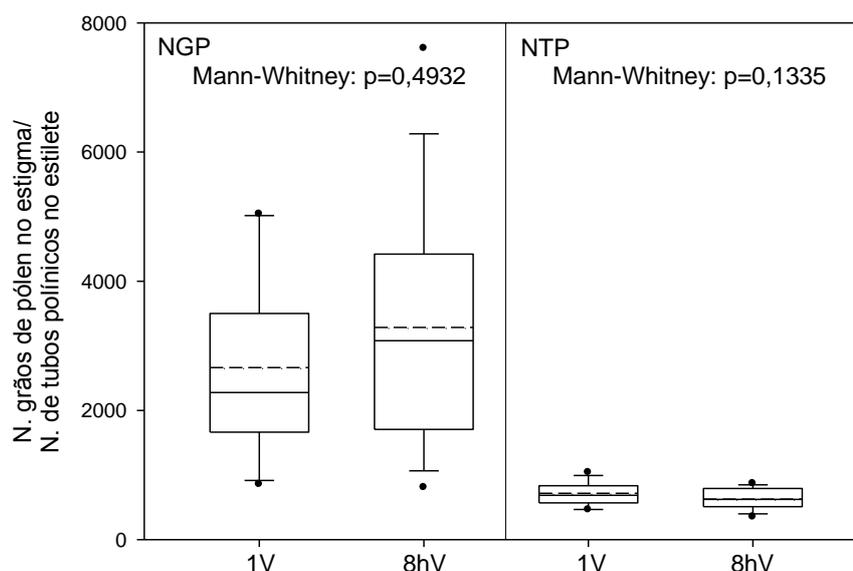


Figura 3.5. Comparação do número de grãos de pólen depositados no estigma (NGP) e do número de tubos polínicos (NTP) formados no estilete de flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) de estilete longo (EL) após uma visita (1V) e após oito horas de visitação (8h) por forrageiras de *Melipona fasciculata*. Linha tracejada = média. Linha cheia = mediana. Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

O comportamento das forrageiras ao visitar flores com estiletos curtos e longos.

O comportamento das forrageiras ao visitar as flores com estilete longo foi igual ao comportamento apresentado durante a visita de flores de estilete curto (tabela 3.1). A duração total da visita, o número de *buzzes* realizados e o tempo que a abelha permaneceu pousada na flor não apresentaram diferenças estatisticamente significativas durante a visita dos dois tipos de flores (Mann-Whitney, $p > 0,05$; figura 3.6).

Tabela 3.1. Comportamento das forrageiras de *Melipona fasciculata* durante a visita a flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) de estilete longo (EL) e curto (EC). DT: duração total da visita. NB: número de *buzzes* realizados. TP: tempo pousada na flor. N: tamanho amostral.

		Média (\pm desvio padrão)	Mínimo	Máximo	N
EL	DT (s)	147 \pm 106	2	393	42
	NB	68 \pm 62	2	240	42
	TP (s)	96 \pm 77	2	288	42
EC	DT (s)	135 \pm 86	38	375	14
	NB	53 \pm 51	14	224	14
	TP (s)	85 \pm 71	21	305	14
Todas (EL+EC)	DT (s)	144 \pm 101	2	393	56
	NB	64 \pm 59	2	240	56
	TP (s)	93 \pm 75	2	305	56

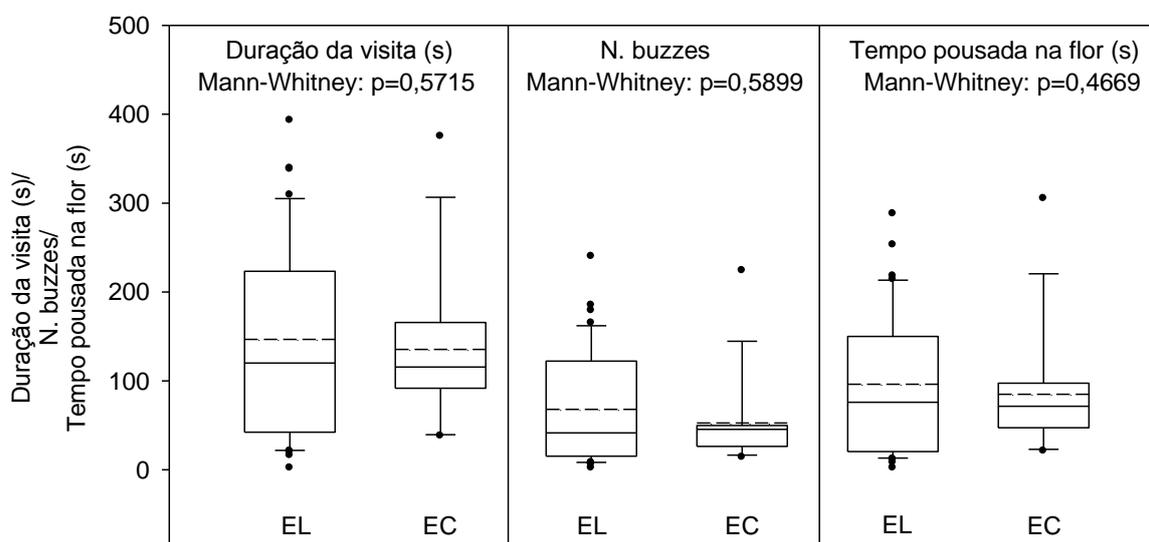


Figura 3.6. Comparação do comportamento das forrageiras de *Melipona fasciculata* durante a visita a flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) de estilete longo (EL) e curto (EC). Linha tracejada = média. Linha cheia = mediana. Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

Relação entre a quantidade de pólen depositada no estigma e o número de tubos polínicos formados no estilete e o comportamento da abelha na flor.

As abelhas permaneceram pousadas na flor em média por 96 ± 77 s (tabela 3.1) durante a primeira visita a flor e realizaram em média 69 ± 62 *buzzes* por visita (tabela 3.1).

Houve correlação estatisticamente significativa entre a duração total da visita e o tempo em que a abelha permaneceu pousada na flor (tabela 3.2 e 3.3), e entre

essas variáveis e o número de *buzzes* realizados pela forrageira durante a visita (tabela 3.2 e 3.3). Não houve correlação estatisticamente significativa entre o número de grãos de pólen depositados no estigma e o tempo em que a abelha permaneceu pousada na flor (tabela 3.2) e o número de *buzzes* realizados pelas abelhas (tabela 3.2). Entretanto, as correlações entre o número de tubos polínicos formados e o tempo que a abelha permaneceu pousada na flor (tabela 3.3) e o número de *buzzes* realizados pelas abelhas (tabela 3.3) foram estatisticamente significativas.

Tabela 3.2. Coeficientes de correlação de Spearman entre o número de grãos de pólen depositados no estigma (NGP) após uma visita a flor de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) por *Melipona fasciculata*, a duração total da visita (DT), o número de *buzzes* (NB) e o tempo em que a abelha permaneceu pousada na flor (TP). N= tamanho amostral.

	DT (s)	NB	TP (s)	N
NB	0,91*	-	-	9
TP (s)	0,91*	0,82*	-	9
NGP	0,63 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,65 ^{ns}	9

* significativo ao nível de $\alpha=0,05$

^{ns} não significativo ao nível de $\alpha=0,05$

Tabela 3.3. Coeficientes de correlação de Spearman entre o número de tubos polínicos formados no estilete (NTP) após uma visita a flor de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) por *Melipona fasciculata*, a duração total da visita (DT), o número de *buzzes* (NB) e o tempo em que a abelha permaneceu pousada na flor (TP). N= tamanho amostral.

	DT(s)	NB	TP (s)	N
NB	0,92*	-	-	17
TP (s)	0,93*	0,91*	-	17
NTP	0,46 ^{ns}	0,56*	0,49*	17

* significativo ao nível de $\alpha=0,05$

^{ns} não significativo ao nível de $\alpha=0,05$

Correlação entre o número de grãos de pólen retirados de uma flor em uma única visita e as características físicas (frequência dominante e da amplitude de velocidade) da vibração realizada pela forrageira.

Não houve diferença estatisticamente significativa (Mann-Whitney, $p>0,05$) entre o número médio de grãos de pólen contido nas anteras de flores de estilete longo e curto (tabela 3.4; figura 3.7) e no tamanho médio dos grãos de pólen desses dois tipos de flor (Mann-Whitney, $p=0,34$; estilete longo: $24,9\mu\text{m}\pm 1,4\mu\text{m}$, $n=14$; estilete curto: $24,9\mu\text{m}\pm 0,4\mu\text{m}$, $n=14$).

Em uma visita uma forrageira retirou, em média, 65,3% do pólen presente em uma flor. No entanto, quando comparamos a quantidade média de pólen remanescente em de flores de estilete longo e curto após uma visita (tabela 3.4) há

diferença estatisticamente significativa (Mann-Whitney, $p < 0,05$). As forrageiras retiram 64,4% e 52,9% do pólen presente em flores de estilete longo e curto, em média, respectivamente.

Tabela 3.4. Número médio (\pm desvio padrão; NM \pm DP), mínimo e máximo de grãos de pólen (NGP) contidos em flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) de estilete longo (EL) e curto (EC) não visitadas (controle) e visitadas uma vez (1V) por forrageiras de *Melipona fasciculata* e da frequência dominante (Hz; FD) e amplitude de velocidade (mm/s; AV) das vibrações realizadas por essas abelhas durante a visita. N: tamanho amostral.

		NM \pm DP	Mínimo	Máximo	N
NGP Controle	Todas (EL + EC)	226.295 \pm 82.046	114.240	475.720	29
	EL	255.308 \pm 97.423	130.850	475.720	15
	EC	195.210 \pm 47.597	114.240	248.760	14
1V (todas)	NGP	78.622 \pm 76.179	4.540	297.810	50
	FD (Hz)	262,7 \pm 17,5	222,2	307,1	50
	AV (mm/s)	228,0 \pm 20,6	189,3	298,5	50
1V EL	NGP	91.004 \pm 69.585	4.540	219.270	30
	FD (Hz)	267,3 \pm 12,3	234,9	288,0	30
	AV (mm/s)	234,6 \pm 22,1	199,2	298,5	30
1V EC	NGP	60.049 \pm 83.490	5.210	297.810	20
	FD (Hz)	255,8 \pm 21,7	222,2	307,1	20
	AV (mm/s)	218,0 \pm 13,3	189,3	244,7	20

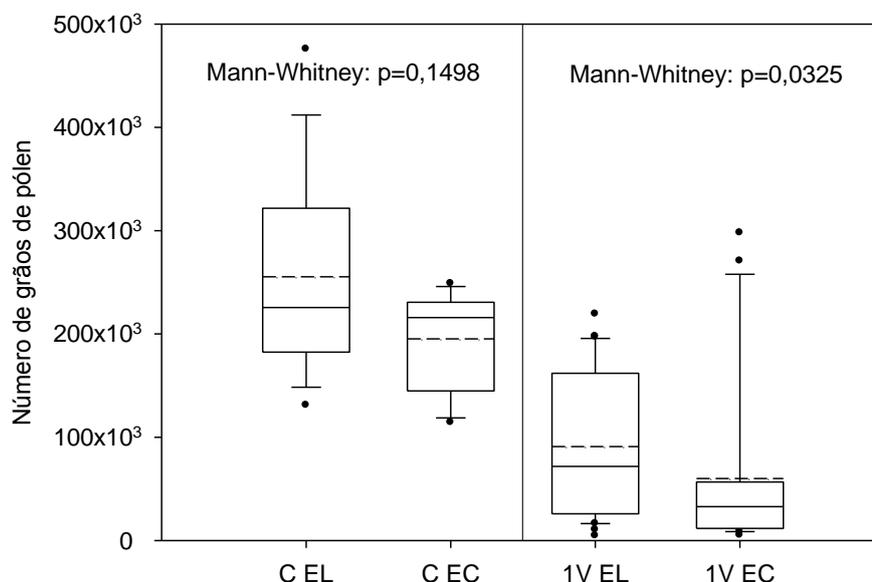


Figura 3.7. Comparação entre o número de grãos de pólen contido nas anteras de flores de beringela de estilete longo (EL) e curto (EC) não visitadas (C) e visitadas uma vez (1V) por *Melipona fasciculata*. Linha tracejada = média. Linha cheia = mediana. Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal

cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

As forrageiras realizaram vibrações com frequência dominante e amplitude de velocidade diferentes em flores de estilete curto e longo (Mann-Whitney, $p < 0,05$; figura 3.8). Não houve correlação estatisticamente significativa entre a frequência dominante e a amplitude de velocidade da vibração realizada por forrageiras de *Melipona fasciculata* em flores de estilete curto e longo e o número de grãos de pólen restantes nas anteras após uma visita (correlação de Spearman, $p > 0,05$; tabela 3.4 e 3.5).

Tabela 3.5. Coeficientes de correlação de Spearman entre o número médio de grãos de pólen (NGP) restantes nas anteras de flores de estilete longo (EL) e curto (EC) e as características físicas da vibração (frequência dominante média: FD; amplitude de velocidade: AV). N= tamanho amostral.

	FD (Hz)	AV (mm/s)	N
EL NGP	0,20 ^{ns}	-0,26 ^{ns}	30
EC NGP	0,28 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	20

^{ns} estatisticamente não significante a $p > 0,05$

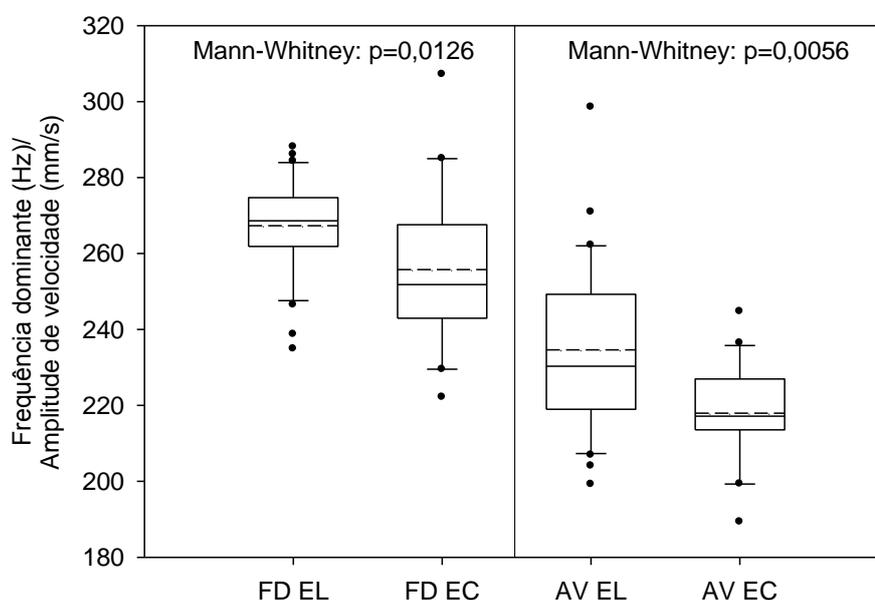


Figura 3.8. Frequência dominante (Hz; FD) e amplitude de velocidade (mm/s; AV) da vibração realizada por forrageiras de *Melipona fasciculata* em flores de beringela de estilete longo (EL) e curto (EC). Linha tracejada = média. Linha cheia = mediana. Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

O padrão de forrageamento no interior da casa de vegetação e a biologia floral da beringela.

As flores de beringela já estavam abertas às 6:00, porém, muitas vezes os poros das anteras ainda estavam fechados, porém, esses abriam antes de 12:00 e as flores se tornavam totalmente abertas, com as pétalas reflexivas. A partir de 16:00 as pétalas não murchavam totalmente, porém, as pétalas não estavam mais reflexivas. As flores podiam repetir esse ciclo de reflexão das pétalas por até quatro dias seguidos até que perdiam a corola.

Quando a colônia estava localizada no meliponário, a coleta de néctar ocorreu ao longo de todo o dia, diminuindo após 16:00 (figura 3.9). A coleta de barro e resina concentrou-se no período da manhã, até 13:00 (figura 3.9). No interior da casa de vegetação essas atividades não ocorreram, visto que as flores de beringela não oferecem néctar e não havia barro e resina para as forrageiras coletarem.

O padrão de forrageamento das colônias em relação à coleta de pólen, a saída das abelhas e à retirada de lixo não foi alterado dentro da casa de vegetação. Tanto a coleta de pólen quanto a saída das abelhas foi mais intensa no início da manhã, diminuindo gradativamente ao longo do dia (figuras 3.10 e 3.11). Já a retirada do lixo da colônia ocorreu com maior intensidade durante a tarde (figura 3.12). Uma maior intensidade de visitação as flores ocorreu durante a manhã, coincidindo com o pico de saída e de entrada de abelhas com pólen na colônia (figura 3.13).

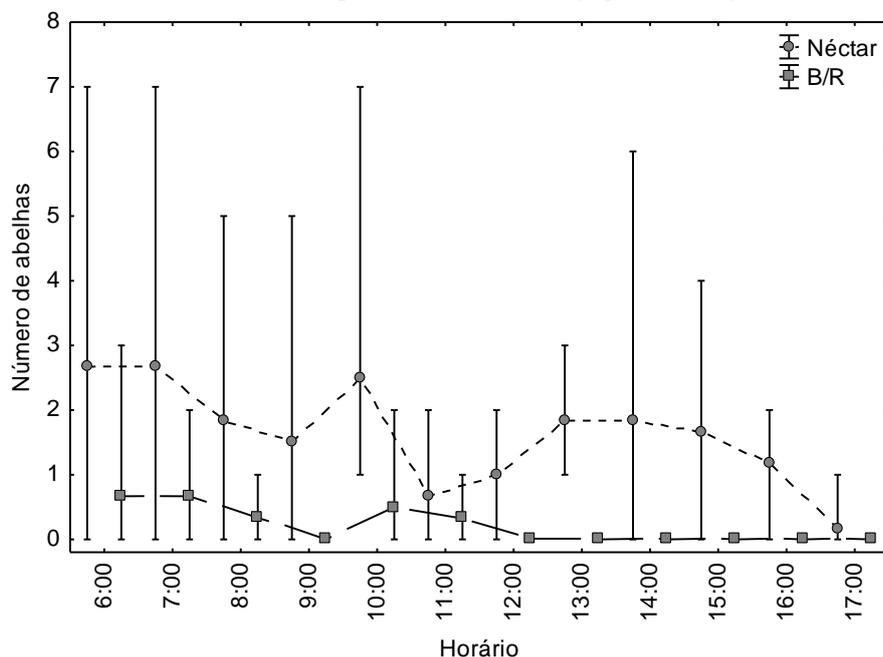


Figura 3.9. Número de forrageiras de *Melipona fasciculata* entrando com néctar e barro e resina (B/R) na colônia por hora quando a colônia estava localizada no meliponário. Whiskers: mínimo e máximo. Pontos: médias.

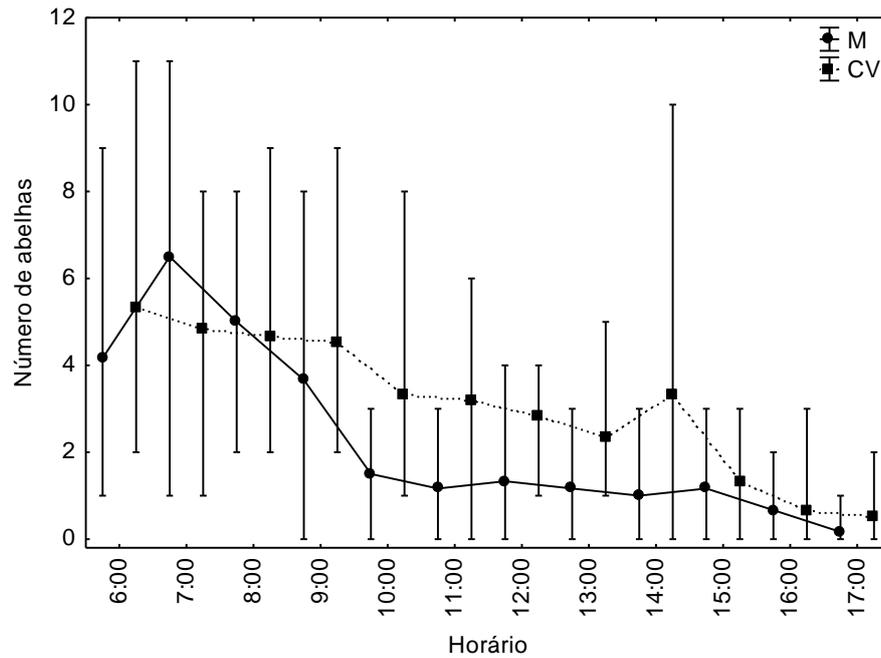


Figura 3.10. Número de forrageiras de *Melipona fasciculata* entrando com pólen na colônia por hora quando a colônia estava localizada no meliponário (M) e no interior da casa de vegetação (CV). Whiskers: mínimo e máximo. Pontos: médias.

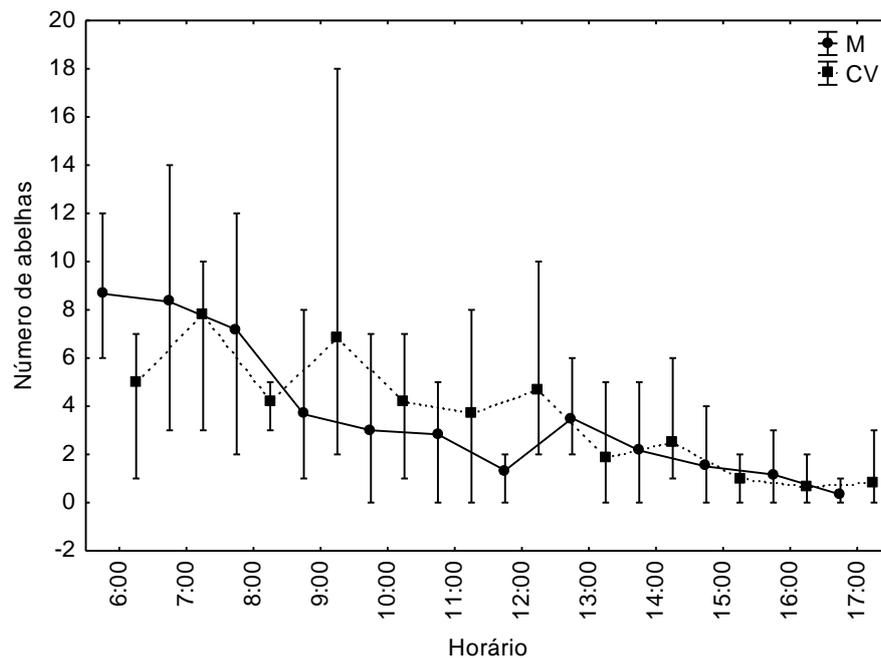


Figura 3.11. Número de forrageiras de *Melipona fasciculata* saindo da colônia por hora quando a colônia estava localizada no meliponário (M) e no interior da casa de vegetação (CV). Whiskers: mínimo e máximo. Pontos: médias.

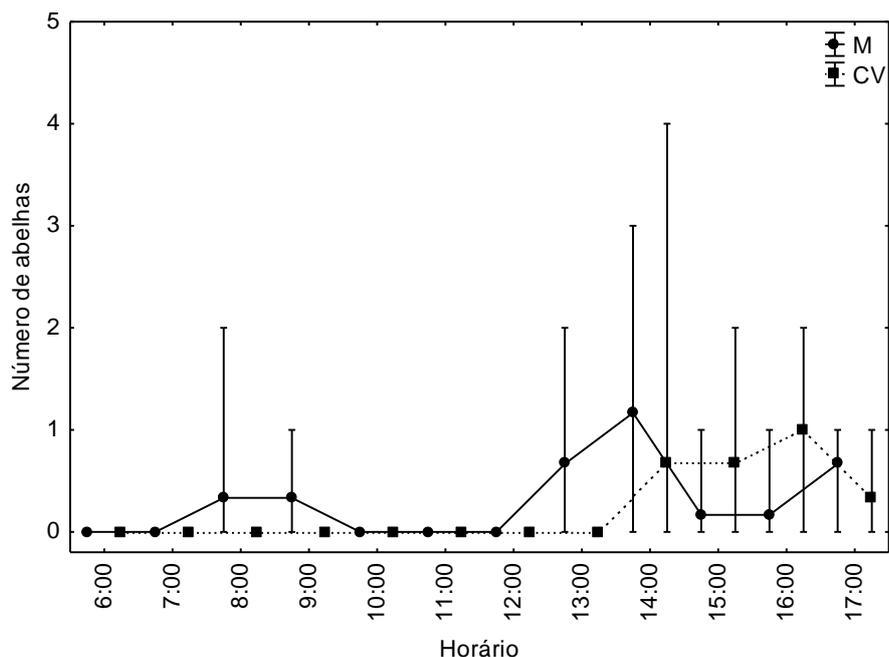


Figura 3.12. Número de forrageiras de *Melipona fasciculata* saindo com lixo da colônia por hora quando a colônia estava localizada no meliponário (M) e no interior da casa de vegetação (CV). Whiskers: mínimo e máximo. Pontos: médias.

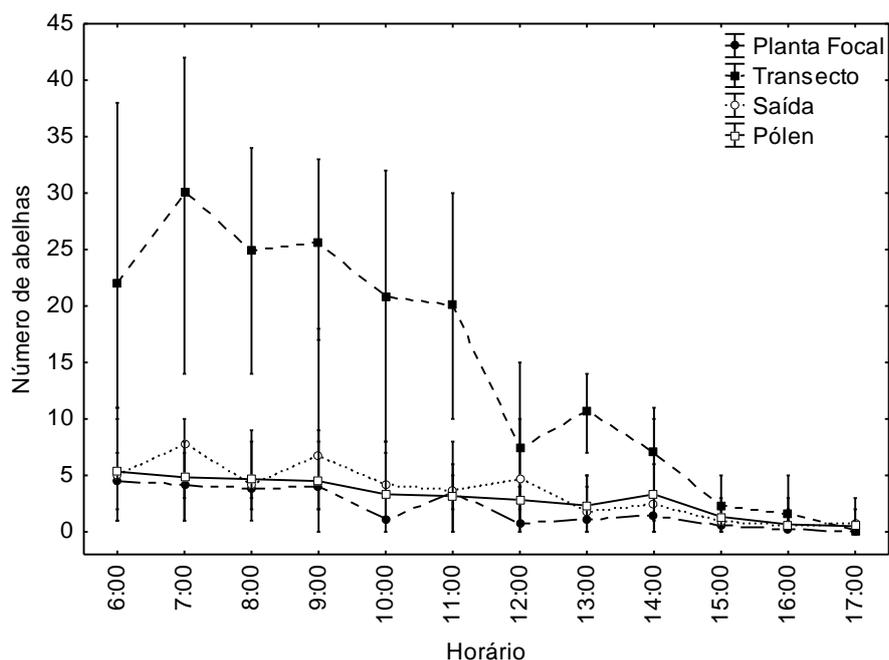


Figura 3.13. Número de forrageiras de *Melipona fasciculata* entrando com pólen e saindo da colônia por hora e número de visitas às flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) ao longo do transecto na casa de vegetação e em uma única planta por hora. Whiskers: mínimo e máximo. Pontos: médias.

A polinização por *M. fasciculata* e a quantidade e a qualidade dos frutos produzidos.

A polinização por *M. fasciculata* aumentou a porcentagem de frutificação, ou seja, a quantidade de frutos produzidos (tabela 3.6), e o peso dos frutos (tabela 3.7,

figura 3.14). O peso dos frutos produzidos pelos diferentes tratamentos foi distinto (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$), porém, não encontramos diferença estatística significativa no peso dos frutos desenvolvidos por geitonogamia, polinização cruzada e polinização por *Melipona fasciculata* (comparação pelo método de Dunn, $p > 0,05$).

Um número muito baixo de frutos se desenvolveu normalmente (figura 3.15A,B) nos diferentes tratamentos. Provavelmente devido às altas temperaturas e incidência de luz, que provocam “cozimento” do fruto, a maioria dos frutos apresentou ressecamento, endurecimento e cor amarela ou marrom (figura 3.15C,D) e/ou não se desenvolveram. Foram utilizados somente os que se desenvolveram normalmente.

Tabela 3.6. Porcentagem de frutos de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) produzidos sem visitas (controle) e com a visita de *Melipona fasciculata*.

		Número total de flores	% Frutificação	% Aborto
Flores estilete longo	Controle	150	23,3	76,7
	Abelhas	233	52,8	47,2
Flores estilete curto	Controle	69	13,0	87,0
	Abelhas	81	2,5	97,5

Tabela 3.7. Peso médio (PM; mg), mínimo (Min) e máximo (Max) dos frutos de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) produzidos pelos diferentes tratamentos e respectivos desvios padrões (DP) e tamanhos amostrais (N).

	PM (mg)	Min (mg)	Max (mg)	DP (mg)	N
Autogamia	311	229	408	53	26
Geitonogamia	291	203	353	63	4
Pol. Cruzada (Xenogamia)	322	261	482	71	11
Controle	213	188	257	29	5
<i>Melipona fasciculata</i>	418	370	453	28	9

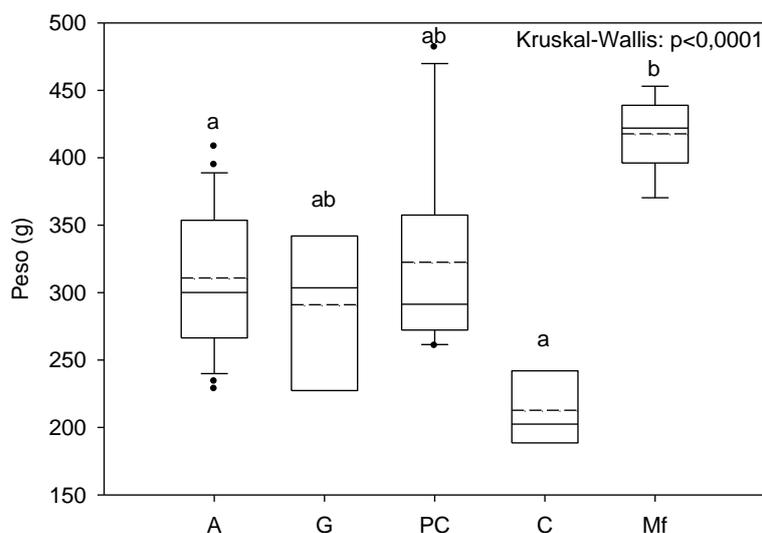


Figura 3.14. Peso médio dos frutos de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) produzidos por autogamia (A), geitonogamia (G) e polinização cruzada

(PC, xenogamia) através de polinização manual, sem polinização (controle, C) e por *Melipona fasciculata* (Mf). Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Linha tracejada = média. Linha cheia = mediana. Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

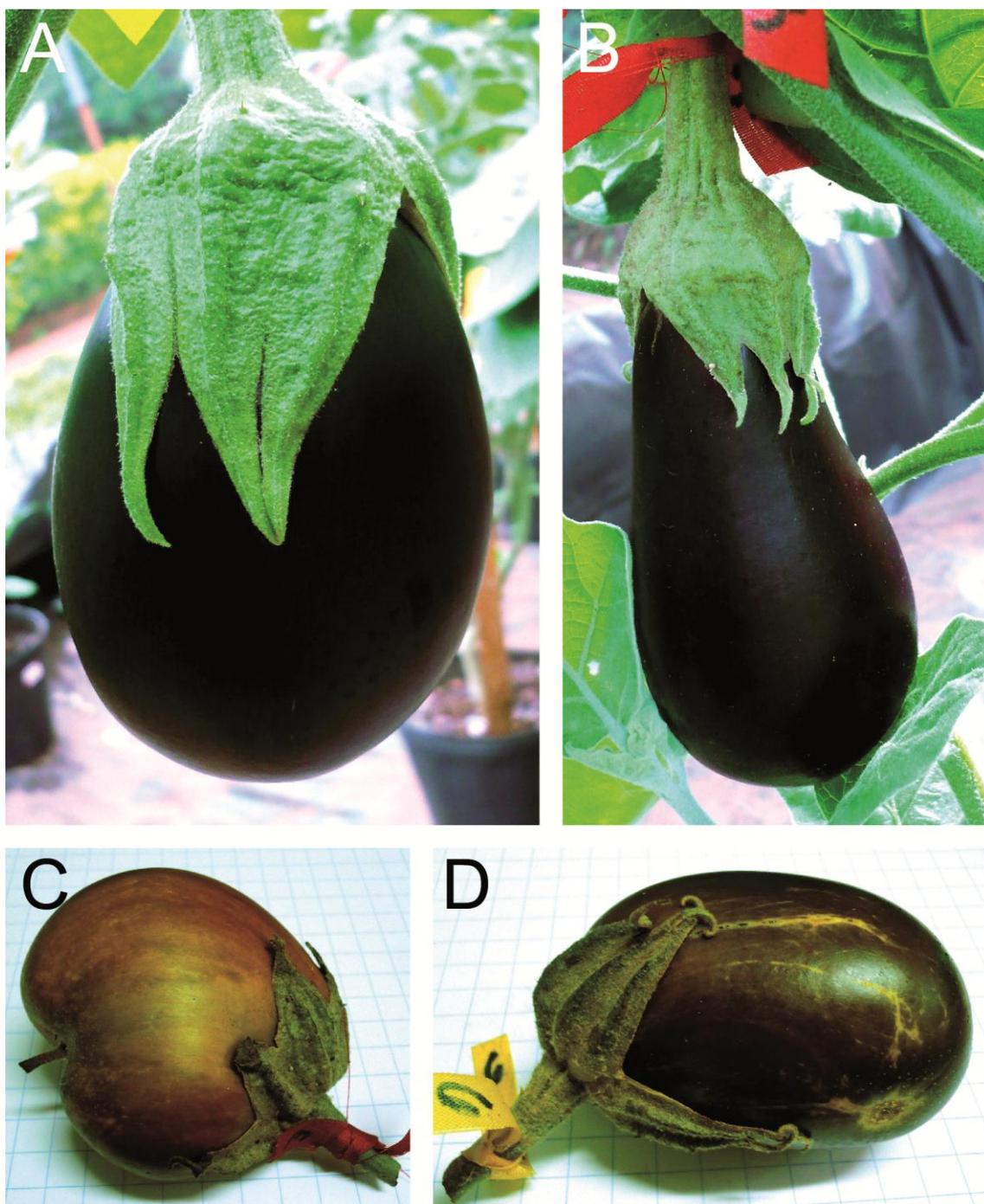


Figura 3.15. Frutos de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) normalmente desenvolvidos (A,B) e mal formados (C, D).

Discussão

O número de visitas necessário para garantir a polinização das flores de uma espécie de planta é um dado essencial, pois está relacionado ao déficit quantitativo de polinização (Vaissière *et al.*, 2009). Os resultados indicam que uma visita de *M. fasciculata* à flor de beringela foi suficiente para que ocorra polinização, visto que não detectamos diferença no número de grãos de pólen presente no estigma e no número de tubos polínicos formados no estilete após uma visita e após oito horas de visitação (figura 3.5). Além disso, apesar de não termos quantificado, cortes do ovário revelaram que os tubos polínicos chegam aos óvulos e realizam a fecundação nos dois casos (figura 3.16). Não checamos níveis posteriores quanto à incompatibilidade, porém nossos resultados, discutidos em seguida, mostram que a polinização por *M. fasciculata* promoveu a produção de frutos.

Outro indicativo é a comparação do número de grãos de pólen depositados no estigma com o número de sementes dos frutos. Se compararmos o número médio de grãos de pólen depositados no estigma após uma visita (2.662 ± 1.355) com o número de sementes presentes nos frutos de beringela (até 2.500; Mc Gregor, 1976), inferimos que uma visita é suficiente para polinizar adequadamente as flores.

O número de tubos polínicos, no entanto, foi menor do que o número de grãos de pólen encontrados no estigma. Apesar de isso poder indicar que não há germinação de todos os grãos de pólen depositados, é mais provável que o grande número de tubos polínicos no estilete tenha dificultado a análise, visto que muitas vezes não foi possível distinguir entre os tubos, os quais formavam feixes (figura 3.17).

É importante ressaltar que encontramos correlação entre o número de tubos polínicos formados e o tempo que a abelha permaneceu pousada na flor e o número de *buzzes* realizados pelas abelhas. Dessa maneira, é preciso estar atento às características das visitas na determinação do número de visitas necessário para garantir uma polinização adequada. A disponibilidade de recursos e outras características do ambiente (luminosidade, por exemplo) afetam o padrão de visitação e a polinização (Totland & Matthews, 1998; Veddeler *et al.*, 2006; Chacoff *et al.*, 2008; Jha & Vandermeer, 2009).

Esses resultados são importantes no planejamento do número de colônias que deve ser usado na polinização agrícola de beringela.

Também não encontramos diferença na quantidade de pólen entre flores de estilete longo e curto, como Rylski e colaboradores (1984), entretanto, houve diferença na porcentagem de pólen retirada das anteras pelas forrageiras. Esse fato pode ser devido à diferença na vibração realizada pelas forrageiras durante a visita desses dois tipos de flores, visto que o comportamento das forrageiras durante a visita não diferiu em relação ao tempo que permaneceu na flor e ao número de *buzzes* realizados, mas encontramos diferença na frequência dominante e na amplitude de velocidade das vibrações realizadas pelas abelhas. No entanto, não houve correlação entre o número de grãos de pólen restantes nas flores após uma visita e as

características físicas da vibração da abelha. Já foi verificado que a morfologia do grão de pólen pode influenciar o comportamento das abelhas durante a visita (Vaissière & Vinson, 1994), entretanto, apesar de não termos verificado a morfologia dos grãos de pólen, não encontramos diferença no tamanho dos grãos dos dois tipos florais. Rylski e colaboradores (1984) também não encontraram diferença no tamanho dos grãos e, além disso, não encontraram diferença na forma.

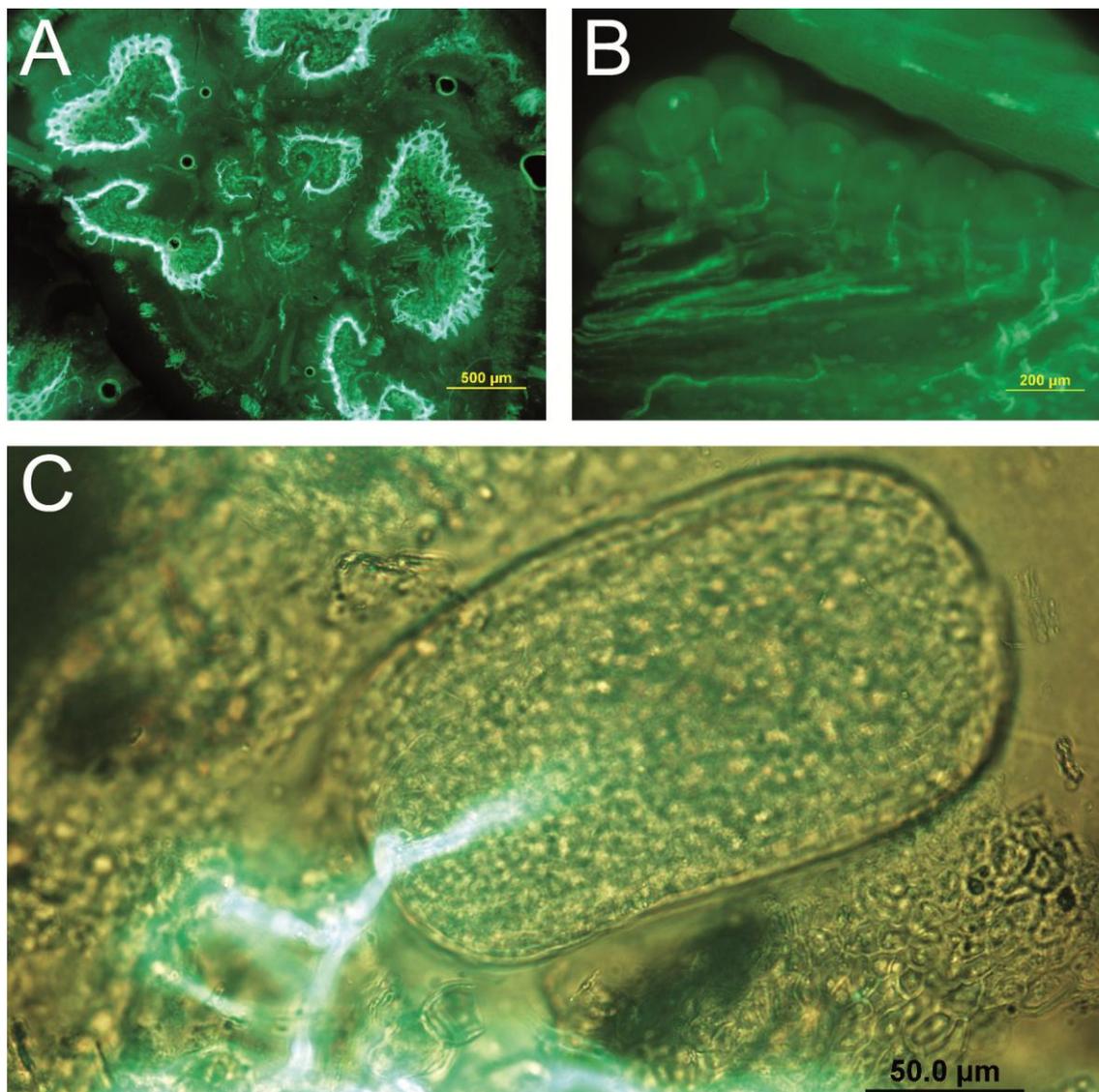


Figura 3.16. Tubos polínicos (verde fluorescente) no ovário de beringela (*Solanum melongena* L.) após 24h da visita por *Melipona fasciculata*. (A) Corte transversal mostrando os tubos polínicos. (B) Tubos polínicos ao atingir os óvulos. (C) Tubo polínico em um óvulo.



Figura 3.17. Corte longitudinal do estilete de beringela (*Solanum melongena*) após ser submetido à técnica de fluorescência.

Assim, outras características das flores, como a quantidade de pollenkit e a umidade das anteras e o tamanho da flor (King, 1993), podem estar envolvidas na diferença encontrada na vibração (frequência e a amplitude de velocidade) realizada pelas abelhas em flores de estilete longo e curto, já que essas características podem ser responsáveis pela variação da frequência natural das anteras nas diferentes espécies de plantas e essa frequência natural provavelmente determina a vibração necessária para que haja a expulsão do pólen da antera (Corbet *et al.*, 1988; King, 1993; King & Buchmann, 1996). Entretanto, não analisamos tais características.

No exterior da casa de vegetação, *M. fasciculata* não apresentou pico de coleta de néctar no meio do dia como já descrito para algumas espécies do gênero (Brujin & Sommeijer, 1997; Pick & Blochtein, 2005; Souza *et al.*, 2006), porém a coleta de barro e resina concentrou-se no período da manhã, corroborando outros estudos (Brujin & Sommeijer, 1997). Como em *M. bicolor* (Hilário *et al.*, 2000) e *M. scutellaris* (Pierrot & Schlindwein, 2003), o pico de coleta de pólen ocorreu no início da manhã.

O padrão de forrageamento dessas abelhas não foi alterado no interior da casa de vegetação no período estudado (final da primavera), assim, considerar o padrão de forrageamento das diferentes espécies de abelhas na tomada de decisão de utilizá-la como polinizador de uma cultura agrícola nesse ambiente torna-se necessário, visto que diferentes espécies de plantas possuem biologias florais diferentes e podem precisar de polinização em horários restritos. Para *M. quadrifasciata*, por exemplo, a baixa eficiência aparente na polinização de tomates foi atribuída à sobreposição de apenas 30 minutos entre o pico de forrageamento das abelhas e o horário de maior receptividade do estigma (Del Sarto *et al.*, 2005).

As flores de beringela começam a se abrir a partir de 6:00 e um maior número de flores de beringela se abre entre 7:00 e 8:00, sendo que a partir de 14:00 começam a fechar, podendo repetir esse ciclo de um a três dias até que não abrem mais

totalmente. A abertura e o fechamento da flor dependem, além de sua idade, de condições ambientais, como temperatura e umidade (Chen, 2001; Kowalska, 2008). As plantas utilizadas nesse estudo apresentaram biologia floral similar, porém permaneceram abertas por mais tempo durante o dia. O padrão de forrageamento das abelhas na casa de vegetação também ocorreu principalmente no período da manhã, como no meliponário, e coincidiu com a abertura das flores e a oferta de pólen, continuando ao longo de todo dia. Dessa forma, as flores foram visitadas durante todo o seu período de abertura, o que garante a polinização em horário adequado e torna *M. fasciculata* eficiente na polinização de beringela.

As diferentes espécies de abelhas apresentam diferentes picos de atividades que podem resultar da influência de fatores ambientais, visto que mudanças ambientais e ciclos diários ou sazonais influenciam as atividades internas e externas das abelhas (Hilário *et al.*, 2000). Uma dessas mudanças é a variação nos recursos oferecidos pelas flores, que podem variar em quantidade e qualidade ao longo do ano e até em um mesmo dia (Roubik, 1989). Os fatores intrínsecos também são fundamentais na regulação do forrageamento, como por exemplo, a temperatura no interior da colônia (Hilário, 2005), o tamanho populacional (Hilário *et al.*, 2000; Hilário *et al.*, 2003), a quantidade de cria (Pick & Blochtein, 2002; Nunes-Silva *et al.*, 2010a) e o estado das colônias (Hilário *et al.*, 2000).

Nesse estudo a não alteração do padrão de forrageamento pode ter sido resultado da disponibilidade de recurso ao longo de todo o dia, já que as flores de beringela estavam abertas durante todo o período de forrageamento das abelhas. No entanto, a temperatura é um fator que deve ser especialmente estudado, visto que em casas de vegetação pode ser um fator limitante. Mesmo em campo aberto os fatores citados se tornam cruciais na escolha de colônias de abelhas que forneçam forrageamento máximo e polinização adequada. Dessa forma, estudos específicos nos quais as variáveis ambientais, como a temperatura, sejam controladas são necessários para verificar se o pico de disponibilidade de recursos florais pode determinar o pico de atividade de forrageamento das abelhas e se é o fator mais importante. Também é preciso verificar como as diferentes espécies de abelhas sem ferrão são capazes de responder a essa mudança em casa de vegetação.

Além da presença de insetos polinizadores, outro fator que influencia na polinização de beringela é o tipo de flor (heterostilia). A maioria das flores em uma planta apresenta estilete longo e a frutificação geralmente ocorre nas flores com estilete longo ou médio (revisto em Kowalska, 2008; Sękara & Bieniasz, 2008). Encontramos uma baixa taxa de frutificação em flores de estilete curto (tabela 3.6), tanto na presença quanto na ausência de polinização por *M. fasciculata*. Outros estudos também observaram que mesmo com polinização, a taxa de frutificação nas flores de estilete curto é menor que nas de estilete longo (Rylski *et al.*, 1984; revisto em Kowalska, 2008; Sękara & Bieniasz, 2008). As flores de estilete curto apresentam estigmas menores, papilas subdesenvolvidas e baixa quantidade de açúcares, em cuja superfície geralmente não ocorre a germinação do pólen, e também não há o crescimento de tubos polínicos no estilete dessas flores (Rylski *et al.*, 1984), por

Sękara & Bieniasz (2008) observaram a germinação de pólen no estigma dessas flores e o crescimento de tubos polínicos, assim, atribuíram a baixa taxa de frutificação desse tipo de flor à sua morfologia, visto que o estigma está acima dos poros das anteras impedindo que o pólen caia sobre ele.

A taxa de aborto das flores de estilete curto foi maior na presença de abelhas (tabela 3.6). Não sabemos se a presença de abelhas pode ter sido a causa e como a visita poderia causar um aumento no aborto das flores desse tipo. Uma possível explicação seria diferenças nas variáveis climáticas do ambiente e a idade das plantas. A avaliação da taxa de frutificação sem abelhas (controle) foi realizada em outubro e novembro e a com a polinização por abelhas em dezembro. A temperatura do ambiente, a precipitação e a idade da planta (Sun *et al.*, 1990; Kowalska, 2006) podem influenciar na frutificação de beringela, assim, não é possível afirmar que a visita por abelhas aumenta a taxa de aborto em flores de estilete curto.

A disposição dos órgãos feminino e masculino das flores de beringela permite que ela se auto polinize (Chen, 2001), no entanto, mesmo sendo auto polinizada, a produção de beringela é maior quando há visitas por abelhas (Amoako & Yeboah-Gyan, 1991; Abak *et al.*, 1995, 2000; revisto em Kowalska, 2008; Gemmill-Herren & Ochieng, 2008; Venturieri *et al.*, 2009; Montemor & Malerbo-Souza, 2009). Como em outras espécies de plantas, é possível que os polinizadores auxiliem na transferência de pólen autógamo durante a polinização (Duncan *et al.*, 2004; Owen *et al.*, 2007). A polinização por *M. fasciculata* aumentou a porcentagem de frutificação em 29,5%, ou seja, a quantidade de frutos produzidos (tabela 3.6), confirmando resultados obtidos por Pires (2009).

A polinização por *M. fasciculata* também aumentou a qualidade dos frutos em relação à auto polinização (autogamia ou geitonogamia) ou à ausência de polinização (controle; sem polinização manual ou visita por abelhas), considerando o peso (tabela 3.7; figura 3.14). Diversos estudos mostraram que o peso dos frutos produzidos é maior quando as flores são visitadas por abelhas em relação à auto polinização (revisto por Kowalska, 2008). Há indicações de que apesar de ser auto compatível, a polinização cruzada promove um aumento no peso dos frutos produzidos (Amoako & Yeboah-Gyan, 1991), o que corrobora os resultados obtidos (figura 3.14). O fato de o peso médio dos frutos produzidos por geitonogamia ter sido estatisticamente igual ao produzidos por polinização cruzada e pela visita de *M. fasciculata* pode ser resultado do baixo grupo amostral desse tratamento.

Os resultados desse estudo demonstram que *M. fasciculata* pode ser utilizada eficientemente na polinização de beringela. São necessários estudos adicionais sobre a possível variabilidade entre colônias em relação à adaptação em casa de vegetação e sobre diferenças comportamentais em diferentes épocas do ano. Também é preciso estudar se essa espécie poderia ser utilizada na polinização de beringela em cultivo em campo aberto.

Referências bibliográficas

- ABAK K., OZDOGAN A.O., DASGAN H.Y., DERIN K. & KAFTANOGLU O. 2000. Effectiveness of bumble bees as pollinators for eggplants grown in unheated greenhouses. *Acta Horticulturae*, 514:197-203.
- ABAK K., SARI N., PAKSOY M., KAFTANOGLU O. & YENINAR H. 1995. Efficiency of bumble bees on the yield and quality of eggplants and tomato grown in unheated greenhouses. *Acta Horticulturae*, 512: 268-274.
- ALLEN-WARDELL G., BERNHARDT P., BURQUEZ A. BUCHMANN S., CANE J., COX P.A., DALTON V., FEINSINGER P., INGRAM M., INOUE D., JONES C.E., KENNEDY K., KEVAN P., KOPOWITZ H, MEDELLIN R., MEDELLIN-MORALES S., NABHAN G.P., PAVLIK B., TEPEDINO V., TORCHIO P. & WALKER S. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conservation Biology*, 12: (1):8-17.
- AMOAKO J. & YEBOAH-GYAN K. 1991. Insect pollination of three solanaceous vegetable crops in Ghana with special reference to the role of African honey bee (*Apis mellifera adansonii*) for fruit set. *Acta Horticulturae*, 288:255-259
- ANEFALOS L.C., MOREIRA S.R., CIPOLLI K.M.V.A.B., TURCO P.H.N. & TAVARES P.E.R. 2008. Sazonalidade da oferta de produtos hortícolas: o mercado de berinjela. In: XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Rio Branco.
- BISPO DOS SANTOS S.A., ROSELINO A.C., HRNCIR M. & BEGO L.R. 2009. Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). *Genetics and Molecular Research*, 8:751-757.
- BORGES F. B. & BLOCHTEIN B. 2005. Atividades externas de *Melipona marginata obscurior* Moure (Hymenoptera, Apidae), em distintas épocas do ano, em São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(3):680-686.
- BRUJIN DE L.L.M. & SOMMEIJER M.J. 1997. Colony foraging in different species of stingless bees (Apidae, Meliponinae) and the regulation of individual nectar foraging. *Insectes sociaux*, 44:35-47.
- BUCHMANN S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds) *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Scientific and Academic Editions, New York, Van Nostrand Reinhold, 73-113.
- BUCHMANN S.L. & HURLEY J.P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in angiosperms. *Journal of Theoretical Biology*, 72:639-657.
- CAUICH O., QUEZADA-EUÁN J.J.G., MACIAS-MACIAS J.O., REYES-OREGEL V., MEDINA-PERALTA S. & PARRA-TABLA V. 2004. Behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes

(*Lycopersicon esculentum*) in subtropical México. *Journal of Economic Entomology*, 97(2):172-179.

CHACOFF N.P., AIZEN M.A. & ASCHERO V. 2008. Proximity to forest edge does not affect crop production despite pollen limitation. *Proceedings of the Royal Society B*, 275:907-913.

CHEN N. C. 2001. Eggplant seed production. Shanhua, Asian Vegetable Research and Development Center, 4 p.

COBLENTZ B.E. 1990. Exotic organisms: a dilemma for Conservation Biology. *Conservation Biology*, 4:261-265.

CONSTANZA R., D'ARGE R., GROOT R., FARBERK S., GRASSO M., HANNON B., LIMBURG K., NAEEM S., PARUELO J., RASKIN R.G., SUTTON P. & VAN DEN BELT M. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253-260.

CORBET S.A., CHAPMAN H. & SAVILLE N. 1988. Vibratory collection and flower form: bumble-bees on *Actinidia*, *Symphytum*, *Borago* and *Polygonatum*. *Functional Ecology*, 2:147-155.

CORTOPASSI-LAURINO M., IMPERATRIZ-FONSECA V.L., ROUBIK D.W., DOLLIN A., HEARD T., AGUILAR I., VENTURIERI G.C., EARDLEY C. & NOGUEIRA-NETO P. 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie*, 37:275-292.

DEL SARTO M.C.L., PERUQUETTI R.C. & CAMPOS L.A.O. 2005. Evaluation of the neotropical bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 98(2):260-266.

DUNCAN D.H., NICOTRA A.B. & CUNNINGHAM S.A. 2004. High self-pollen transfer and low fruit set in buzz-pollinated *Dianella revoluta* (Phormiaceae). *Australian Journal of Botany*, 52: 185-193.

GALLAI N., SALLES J.M., SETTELE J. & VAISSIÈRE B. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68:810-821.

GEMMILL-HERREN B. & OCHIENG A.O. 2008. Role of native bees and natural habitats in eggplant (*Solanum melongena*) pollination in Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 127(1-2): 31-36.

HILÁRIO S.D., IMPERATRIZ-FONSECA V.L. & KLEINERT A.M.P. 2000. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). *Revista Brasileira de Biologia*, 60(2):299-306.

HILÁRIO S.D., GIMENES M. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. 2003. The influence of colony size in diel rhythms of flight activity of *Melipona bicolor* Lepelletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). In: G. A. R. Melo & I. Alves dos Santos (eds.)

Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 Anos de Jesus Santiago Moure. Criciúma, Editora UNESC, p.191-197.

HILÁRIO S.D. 2005. Atividade de vôo e termorregulação de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Universidade de São Paulo, São Paulo, Tese de Doutorado, 124p.

IMPERATRIZ-FONSECA V., SARAIVA A.M. & DE JONG D. 2006. *Bees as pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting best practices*. Ribeirão Preto, Holos Editora, 112p.

JHA S. & VANDERMEER J.H. 2009. Contrasting bee foraging in response to resource scale and local habitat management. *Oikos*, 118:1174-1180.

KEVAN P.G. & VIANA B.F. 2003. The global decline of pollination services. *Biodiversity*, 4(4):3-8.

KING M.J. 1993. Buzz foraging mechanism in bumble bees. *Journal of Apicultural Research*, 32(1):41-49.

KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1996. Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology*, 10:449-456.

KOWALSKA G. 2006. Eggplant (*Solanum melongena* L.) flowering and fruiting dynamics depending on pistil type as well as way of pollination and flower harmonization. *Folia Horticulturae*, 18/1: 17-29.

KOWALSKA G. 2008. Flowering biology of eggplant and procedures intensifying fruit set – review. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortum Cultus*, 7(4):63-76.

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

MARTIN F. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology*, 34(3):125-128.

MCGREGOR S.E. 1976. *Insect pollination of cultivated crop plants*. 1 ed. Washington, DC, USDA, 411p.

MONTEMOR K.A. & MALERBO-SOUZA D.T. 2009. Biodiversidade de polinizadores e biologia floral em cultura de berinjela (*Solanum melongena*). *Zootecnia Tropical*, 27(1):97-103.

NUNES-SILVA P., HILÁRIO S.D., SANTOS FILHO P.S. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. 2010a. Foraging activity in *Plebeia remota*, a stingless bees species, is influenced by the reproductive state of a colony. *Psyche* 2010, article ID 241204, 16 p. Disponível em <http://www.hindawi.com/journals/psyche/2010/241204/>

NUNES-SILVA P., HRNCIR M. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. 2010b. A polinização por vibração. *Oecologia Australis*, 14(1):140-151.

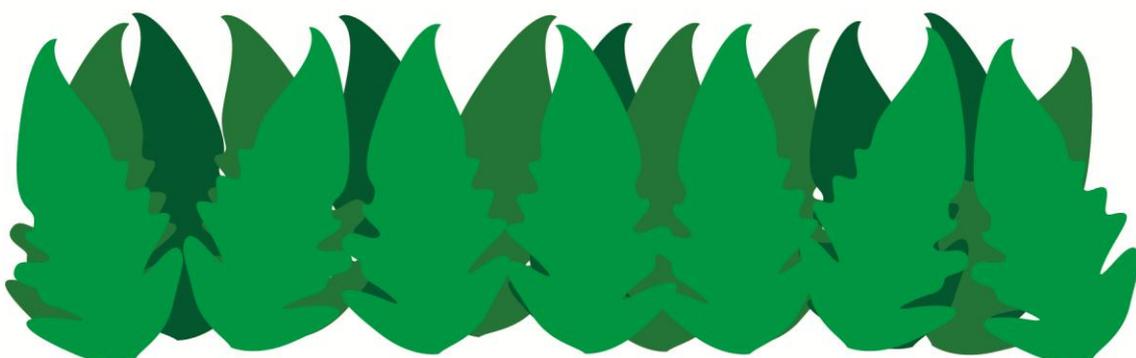
- OLLERTON J., WINFREE R. & TARRANT S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120:321–326.
- OWEN K., VAUGHTON G. & RAMSEY M. 2007. Facilitated autogamy and costs of selfing in the perennial herb *Bulbine bulbosa* (Asphodelaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 168(5):579–585.
- PALMA G., QUEZADA-EUÁN J.J.G., REYES-OREGEL V., MELÉNDEZ V. & MOO-VALLE H. 2008. Production of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) using *Nannotrigona perilampoides*, *Bombus impatiens* and mechanical vibration (Hym.: Apoidea). *Journal of Applied Entomology*, 132:79-85.
- PICK R.A. & BLOCHTEIN B. 2002. Atividades de vôo de *Plebeia saiqui* (Holmberg) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) durante o período de postura da rainha e em diapausa. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(3):827-839.
- PIERROT L.M. & SCHLINDWEIN C. 2003. Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of urucu - *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae, Meliponini). *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(4): 565-571.
- PRIMACK R.B. 1993. *Essentials of conservation biology*. 1 ed. Massachusetts, Sinauer Associates Inc., 564p.
- RAW A. 2000. Foraging behaviour of wild bees at hot pepper flowers (*Capsicum annum*) and its possible influence on cross pollination. *Annals of Botany*, 84:487-492.
- RICKETTS T.H, REGETZ J., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A, KREMEN C., BOGDANSKI A., GEMMILL-HERREN B., GREENLEAF S.S, KLEIN A.M, MAYFIELD M.M, MORANDIN L.A, OCHIENG A. & VIANA B.F. 2008. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecology Letters*, 11:499-515.
- ROUBIK D.W. 1989. *Ecology and natural history of tropical bees*. New York, Cambridge University Press, 514p.
- RYLSKI I., NOTHMANN J. AND ARCAN L., 1984. Differential fertility in short-styled eggplant flowers. *Scientia Horticulturae*, 22:39-46.
- SĘKARA A. & BIENIASZ M. 2008. Pollination, fertilization and fruit formation in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Acta Agrobotanica*, 61(1):107–113.
- SHEPERD M., BUCHMANN S.L., VAUGHAN M. & BLACK S.H. 2003. *Pollinator Conservation Handbook*. The Xerces Society, Portland, 145 p.
- SLAA E.J., SANCHEZ L.A., MALAGODI-BRAGA K.S. & HOFSTEDE F.E. 2006. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37:293-315.
- SOUZA B. A., CARVALHO C.A.L. & ALVES R.M.O. 2006. Flight activity of *Melipona asilvai* moure (Hymenoptera: Apidae). *Brazilian Journal of Biology* 66(2B):731–737.

- SUN W., WANG D., WU Z. & ZHI J. 1990. Seasonal change of fruit setting in eggplants (*Solanum melongena* L.) caused by different climatic conditions. *Scientia Horticulturae*, 44:55-59.
- TORCHIO P.F. 1994. The present status and future prospects of non social bees as crop pollinators. *Bee World*, 75: 49-53.
- TOTLAND, Ø. & MATTHEWS, I. 1998. Determinants of pollinator activity and flower preference in the early spring blooming *Crocus vernus*. *Acta Oecologica*, 19 (2) 155-165.
- VAISSIÈRE B.E., FREITAS B.M. & GEMMILL-HERREN B. 2011. *Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use*. Roma, FAO, 81 p.
- VAISSIÈRE B.E. & VINSON B. 1994. Pollen morphology and its effect on pollen collection by honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), with special reference to upland cotton, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae). *Grana*, 33:128-138.
- VEDDELER D., KLEIN A.-M. & TSCHARNTKE T. 2006. Contrasting responses of bee communities to coffee flowering at different spatial scales. *Oikos*, 112:594-601.
- VELTHUIS H.H.W. & VAN DOORN A. 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 37:421-451.
- VENTURIERI G.C., PIRES N.V.C.R. & CONTRERA F.A.L. 2009. Management of stingless bee, *Melipona fasciculata*, for pollination of solanaceous crops in greenhouses. In: Proceedings of 41st Apimondia, Montpellier.



Capítulo 4:

O comportamento de *Bombus impatiens* nas flores de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill, Solanaceae) e beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) e as conseqüências para a polinização.



Resumo

Estudar o comportamento dos polinizadores é importante para definir a eficiência das diferentes espécies em polinizar uma espécie de planta. Além disso, é necessário para determinar as estratégias de forrageamento das abelhas e suas respostas à disponibilidade de recursos. Nesse estudo, verificamos a relação entre o número de visitas às flores de tomate pelas abelhas da espécie *Bombus impatiens* e a qualidade dos frutos resultantes (peso, número de sementes), e também a relação entre o peso torácico das forrageiras, as características físicas das vibrações torácicas (frequência e velocidade), a quantidade de pólen removido das flores e a qualidade dos tomates. Também verificamos a capacidade das forrageiras em avaliar a disponibilidade de pólen nas flores de tomate e se as vibrações produzidas pelas forrageiras durante a polinização de plantas diferentes diferem ou não (tomate e beringela). O peso e o número de sementes de tomate não aumentaram significativamente com o número de visitas e também não foram correlacionados com o peso torácico das forrageiras. O peso torácico das forrageiras também não esteve correlacionado com a quantidade de pólen removido das flores nem com as características físicas da vibração. As forrageiras realizaram vibrações que diferiram em frequência principal e amplitude de velocidade em flores de tomate e beringela. Essas características, no entanto, não mudaram em resposta à quantidade de pólen disponível nas flores de tomate. Ao invés disso, as forrageiras ajustaram o tempo gasto nas visitas. Os resultados são discutidos sob os pontos de vista agrícola e comportamental.

Abstract

Studying the behavior of pollinators is important to define the efficiency of different species in pollinating a certain plant species. Additionally, it is necessary to determine the foraging strategies of bees and their responses to resource availability. In this study, we investigated the relationship between the number of visits of tomato flowers by bees of the species *Bombus impatiens* and the quality of the resulting fruits (weight, number of seeds), as well as the relationship between foragers' thorax weight, physical characteristics of thoracic vibration (frequency and velocity), amount of pollen removed from flowers, and quality of tomatoes. We also verified the capability of foragers to evaluate the availability of pollen in tomato flowers and studied whether or not the vibrations produced by foragers during the pollination of different plant species differ (tomato and eggplant). Tomato weight and seed number did not increase with the number of bee visits, neither were they correlated with the foragers' thorax weight. Thorax weight, further, was not correlated to the amount of pollen removed from the flowers nor with the physical characteristics of vibration. Foragers performed vibrations differing in main frequency and velocity amplitude on tomato and eggplant flowers. These vibration characteristics, however, did not change in response to the amount of pollen available on tomato flowers. Instead, foragers adjusted the time spent visiting the flowers. The results are discussed under agricultural and behavioral points of view.

Introdução

A polinização é um componente chave na manutenção da diversidade e abundância dos organismos e no funcionamento dos ecossistemas (Constanza *et al.*, 1997; Kevan & Viana, 2003), visto que os polinizadores são essenciais para a reprodução de cerca de 87,5% das plantas com flores (Ollerton *et al.*, 2011), e assim sustentam as populações de plantas as quais muitos outros animais utilizam como alimento e abrigo. Além disso, cerca de 75% das culturas agrícolas depende da polinização animal, ou seja, é também essencial para a produção de alimentos (Sheperd *et al.*, 2003). O papel dos polinizadores na agricultura está cada vez mais evidente, visto que a agricultura tem se tornado mais dependente dos polinizadores, tanto nos países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (Gallai *et al.*, 2009; Vaissière *et al.*, 2009). Entre os polinizadores bióticos, as abelhas constituem-se nos principais (Shepherd *et al.*, 2003; Ricketts *et al.*, 2008).

Atualmente cinco espécies de *Bombus* são utilizadas na polinização de culturas agrícolas, sendo *B. terrestris* e *B. impatiens* as principais entre elas. Na América do Norte, *B. impatiens* é a espécie mais comercializada. Começou a ser criada para suprir a falta de *B. occidentalis*, espécie cuja criação foi abandonada no oeste norte americano por ser muito afetada por *Nosema bombi*. Mundialmente, cerca de 95% das vendas de *Bombus* é para a polinização de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) e envolve mais de 40 mil hectares de plantas cultivadas em casas de vegetação com valor estimado de 12 milhões de euros por ano (Velthuis & van Doorn, 2006).

Muitos estudos foram realizados sobre a utilização das abelhas *Bombus* na polinização de tomates. Em geral, as abelhas *Bombus* são consideradas as melhores polinizadoras dessa cultura, sendo tão eficientes quanto à vibração manual ou aumentando a qualidade dos frutos produzidos (ex.: Banda & Paxton 1991; Dogterom *et al.* 1998; Morandin *et al.* 2001a, 2001b; Kevan *et al.* 1991). Não são necessárias muitas visitas de *Bombus impatiens* às flores de tomate para a formação de frutos de boa qualidade (Morandin *et al.*, 2001b). Já a beringela não é tão estudada como o tomate em relação à polinização por abelhas, no entanto, estudos apontam que as abelhas *Bombus* podem aumentar a quantidade de frutos produzidos, assim como o peso e o número de sementes desses frutos (Free, 1975; Abak *et al.*, 1995, 2000; Gemmill-Herren & Ochieng 2008; Kowalska, 2008).

Tanto o tomate quanto a beringela são auto-compatíveis, entretanto, para as flores liberarem o pólen, é necessária a agitação das anteras (Buchmann, 1983). Em espaços abertos, o vento causa a agitação das anteras e a fecundação pode ocorrer, mas não entre plantas, e, se não houver vento, não haverá polinização e dessa maneira, a visita de insetos polinizadores se torna benéfica (McGregor, 1976). Além disso, dentro de limites, pelo menos no caso do tomate, o tamanho do fruto depende de quanto pólen é transferido para o estigma (Morandin *et al.*, 2001b). Dessa maneira, a polinização por vibração se torna importante para o cultivo dessa espécie. Durante esse tipo de polinização as abelhas agarram as anteras e vibram os músculos torácicos. Essa vibração é transmitida para as anteras através do próprio tórax, das

pernas e das mandíbulas das abelhas e causa a liberação do pólen (Buchmann, 1978, 1983). Não se sabe se há relação entre as características físicas das vibrações realizadas pela abelha durante a polinização e a qualidade dos frutos produzidos.

Apesar do estudo da biologia da polinização existir a dois séculos, ainda se sabe muito pouco sobre as interações entre os polinizadores invertebrados e as plantas que eles visitam em busca de alimento (Allen-Wardell *et al.*, 1998; Kevan & Viana, 2003). A polinização por vibração é especialmente pouco estudada em detalhes (Buchmann, 1978). Entender o comportamento das abelhas durante a visita às flores é necessário para o planejamento do manejo adotado na utilização desses insetos na polinização agrícola. O estudo do forrageamento, por exemplo, é essencial na determinação da quantidade de colônias necessárias para polinizar uma área de produção (exemplo: Morandin *et al.*, 2001a, b). Além disso, indica as necessidades que cada espécie possui para um forrageamento ótimo nas diferentes condições que as culturas são produzidas, como em casas de vegetação. Estudando como as abelhas utilizam a luz ultravioleta durante o forrageamento, por exemplo, foi possível identificar os motivos pelos quais os diferentes tipos de coberturas utilizados em casas de vegetação influenciam essa atividade em *Bombus* e, conseqüentemente, a polinização, e indicar práticas que maximizam o aproveitamento das colônias na polinização e minimizam a perda de abelhas (Morandin *et al.*, 2001c, 2002; Dyer & Chittka, 2004).

A espécie de planta cultivada e suas características florais também influenciam o comportamento dos polinizadores (Lefebvre & Pierre, 2006). As flores de tomate, por exemplo, apresentam em seu odor compostos que são repelentes a *Bombus impatiens* e a frequência de visita é menor em flores que apresentam maior quantidade desses compostos, sendo possível controlar sua produção alterando as condições de crescimento dos tomateiros (Morse, 2009). Dessa forma, estudar como as abelhas reconhecem as recompensas florais e alteram seu comportamento (taxa de visitação, duração da visita, padrão de forrageamento entre as flores, entre outros) em resposta a elas pode ajudar a manejá-las de forma a maximizar sua atividade durante a polinização, sendo também possível manejar as plantas que serão polinizadas.

Hodges & Miller (1981) estudando quatro espécies de *Bombus* (*B. appositus*, *B. bifarium*, *B. flavifrons* e *B. occidentalis*) forrageando em *Aquilegia caerulea* (Ranunculaceae) concluíram que essas abelhas não são capazes de avaliar a quantidade de pólen disponível em uma flor ao visitá-la, visto que não gastavam menos tempo em flores já visitadas. No entanto, Buchmann & Cane (1989) observaram flores de *Solanum elaeagnifolium* (Solanaceae) virgens e com os poros fechados com cola sendo visitadas por *Ptiloglossa arizonensis* e *B. sonorus* e os resultados mostram que essas abelhas gastam menos tempo em flores sem acesso ao pólen (poros fechados), além de realizar menor número de vibrações (“buzzes”) e vôos de limpeza, ou seja, são capazes de avaliar a quantidade de pólen disponível em uma flor ao visitá-la.

Diante do papel das abelhas *Bombus* na polinização e a relação entre seu comportamento e sua eficiência como polinizadora, esse trabalho visou responder às seguintes perguntas: (1) a qualidade do tomate e a taxa de frutificação dependem do número de visitas recebidas pela flor? (2) a qualidade do tomate depende do tamanho (peso do tórax) da forrageira? (3) forrageiras maiores retiram maior quantidade de pólen? (4) forrageiras maiores realizam vibrações com características físicas diferentes das forrageiras menores? (5) as forrageiras de *B. impatiens* são capazes de avaliar a quantidade de pólen disponível em uma flor durante a polinização? (6) as forrageiras realizam vibrações com características físicas diferentes durante a polinização de plantas diferentes?

Para responder essas perguntas foi necessário verificar: (1) se há correlação entre o número de visitas recebidas pelas flores e o peso e o número de sementes dos tomates resultantes, assim como com a taxa de frutificação entre os diferentes grupos; (2) se há correlação entre o número de visitas recebidas pelas flores e o peso e o número de sementes dos tomates resultantes; (3) se há diferença na quantidade de pólen coletada por *B. impatiens* entre a primeira e a quarta visita as flores de tomate; (4) se há diferença nas características físicas da vibração (frequência dominante e da amplitude de velocidade) de *B. impatiens* entre a primeira e a quarta visita às flores de tomate e durante a primeira visita à uma flor de tomate com acesso ao pólen impedido; (5) se há diferença no tempo gasto por *B. impatiens* durante a primeira, segunda, terceira e quarta visita à uma flor de tomate com pólen disponível e durante a primeira visita à uma flor de tomate com acesso ao pólen impedido; (6) se há correlação entre o tamanho (peso do tórax) das forrageiras e as características físicas da sua vibração (frequência dominante e da amplitude de velocidade); (7) se há correlação entre o tamanho (peso do tórax) das forrageiras e a quantidade de pólen que retiram das flores; (8) se há diferença nas características físicas da vibração (frequência dominante e da amplitude de velocidade) de *B. impatiens* entre a primeira visita às flores de tomate e a primeira visita às flores de beringela; (9) a quantidade de pólen retirada da flor de beringela por *B. impatiens* durante a primeira visita.

Material e métodos

Local e período de estudo:

Os experimentos foram realizados nas casas de vegetação do *Greenhouse and Processing Crops Research Center* da *Agriculture and Agri-Food Canada* (Harrow - Ontario, Canadá) de 8 de abril a 1 de junho de 2010. Em um compartimento da casa de vegetação foram mantidos os tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) utilizados nos experimentos (compartimento A) e em outro compartimento foram mantidas duas gaiolas (figura 4.1; compartimento B), cada uma com uma colônia de *B. impatiens* e 20 tomateiros.

Colônias:

As colônias de *B. impatiens* foram fornecidas pela Biobest Canada (Leamington – Ontario, Canadá) e eram constituídas por uma rainha e inicialmente 15 operárias. As colméias continham um compartimento com uma solução substituta ao néctar, já que os tomateiros não fornecem esse alimento.



Figura 4.1. Gaiolas onde foram realizados os experimentos (compartimento B).

Influência do número de visitas e do comportamento das forrageiras na qualidade dos frutos:

Plantas com flores não visitadas anteriormente eram transferidas para o compartimento B. As flores utilizadas eram ensacadas antes da transferência e liberadas uma a uma após uma forrageira ser solta da colônia e começar a forragear. Essas flores sempre estavam no estágio em que as pétalas se encontram reflexivas (figura 4.2A). Após o número desejado de visitas, a flor era ensacada novamente até a planta ser colocada de volta no compartimento A, onde foram mantidas até o amadurecimento dos frutos. Cada flor foi marcada com uma etiqueta para identificação do tratamento e após o crescimento dos frutos, estes também foram etiquetados para identificação.

Os tratamentos foram os seguintes: (C) controle: nenhuma visita; (1V) uma visita; (2V) duas visitas; (3V) três visitas; (4V) quatro visitas; (C2) controle 2: uma gota de silicone na superfície do cone de anteras; e (PF) poro fechado: flores com o poro do cone da antera bloqueado com silicone para impedir a saída do pólen (figura 4.3).

Após seu amadurecimento, os frutos resultantes foram pesados e suas sementes contadas. Todas as visitas foram filmadas e analisadas quanto à duração total. O número de *buzzes* realizados pela forrageira não foi utilizado, como em estudos anteriores (exemplo Buchmann & Cane, 1989), porque o ruído do sistema de ventilação impossibilitou a audição do barulho da vibração das forrageiras em várias filmagens e na maioria dificultou, prejudicando a precisão dos dados. Ao final de cada repetição (pelo menos um dos tratamentos) as forrageiras utilizadas foram coletadas, mortas por congelamento e seus tórax pesados em balança de precisão (10^{-4}).

Quantidade de pólen removida das flores e gravação da vibração:

O objetivo do segundo experimento foi verificar a quantidade de pólen retirada pelas forrageiras na primeira visita e após quatro visitas e gravar a vibração das forrageiras durante a primeira e a quarta visita. Foram utilizadas flores de tomate retiradas dos tomateiros do compartimento sem abelhas, ou seja, nunca visitadas. A vibração das forrageiras foi gravada durante a polinização da flor não visitada anteriormente fixada a um tripé (figura 4.2a). O vibrômetro a laser foi posicionado abaixo da flor, sobre uma mesa (figura 4.2b). As vibrações foram gravadas com o programa Soundforge 7.0 e analisadas posteriormente com o programa SpectraPro 3.32 quanto à frequência dominante (Hz) e à amplitude de velocidade (mm/s). Foram gravadas as vibrações realizadas pelas abelhas durante os tratamentos 1V (n=15 flores), durante a primeira e a quarta visita (4V; n=15 flores), C2 (n=14) e PF (n=15).

As forrageiras realizaram de um a quatro tratamentos e após as visitas, as forrageiras foram coletadas, mortas por congelamento e seus tórax pesados em balança de precisão (10^{-4}).

Após o tratamento, a flor era coletada e o cone de anteras retirado e armazenado em 1 ml de álcool 70%. A contagem do pólen restante nas anteras visitadas uma vez (1V, n=15) e quatro vezes (4V, n=15) foi realizada, assim como de flores nunca visitadas (controle, n=13). A estimativa do pólen retirado das flores foi realizada subtraindo-se a quantidade de pólen restante nas anteras após a visita da quantidade média de pólen contida em uma flor.

A preparação dessas anteras para a contagem foi realizada no Departamento de Ecologia Ambiental da Universidade de Guelph (Guelph - Ontario, Canadá). A contagem foi realizada com um contador de partículas (MultisizerT 3 COULTER COUNTER®) no Departamento de Biologia Integrativa da Universidade de Guelph. A quantidade total de pólen contido em 15 ml de solução salina (própria para analisar a amostra no contador) foi estimada a partir da contagem do pólen contido em três sub amostras de 0,5 ml cada.

A vibração das forrageiras também foi gravada durante a primeira visita (n=16) à flores de beringela (*Solanum melongena* L. var. Carmon), como explicado anteriormente para as visitas às flores de tomate. Essas flores foram coletadas na estufa da empresa Cedar Beach Acres Ltd e transportadas para as gaiolas da AAFC. Para o transporte foram acondicionadas com o pedicelo imerso em água e foram

utilizadas em até três horas após a coleta. Não foi observado sinal de murcha e nenhuma característica pareceu alterada (cor, forma, etc).

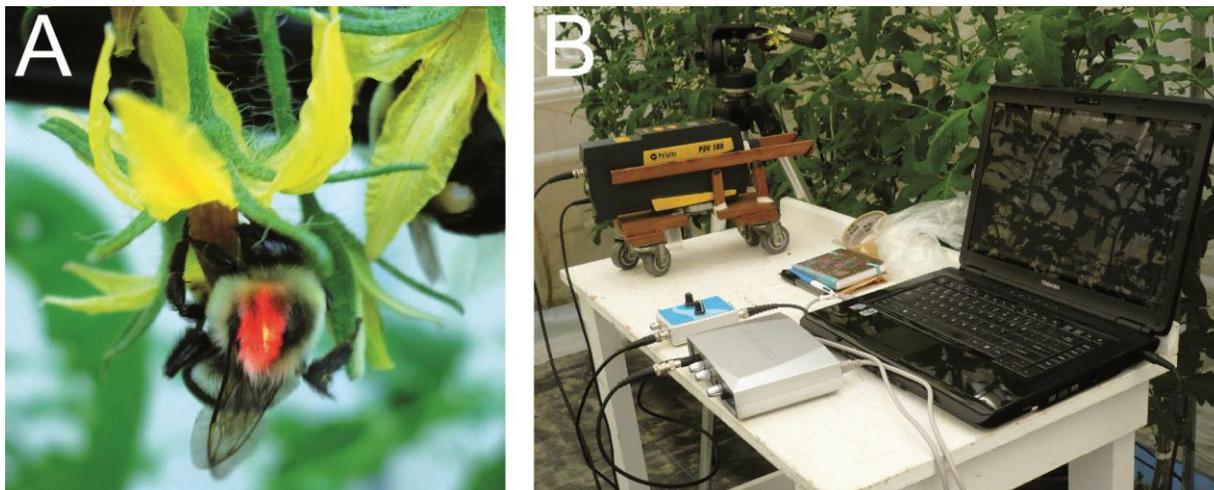


Figura 4.2. Gravação da vibração de *Bombus impatiens* durante a polinização de beringela. A) Flor no tripé; ponto vermelho no tórax da abelha é o laser do vibrômetro. B) Todo o equipamento.



Figura 4.3. A) Poro do cone de antera bloqueado com silicone. B) Cone de antera aberto na lateral mostrando o silicone bloqueando o poro; a flor foi vibrada por uma abelha, assim pode-se ver que o silicone não é perdido durante a vibração. Também é possível visualizar o pólen no estigma.

Também foram coletadas as anteras de flores nunca visitadas (n=9) e após a primeira visita (n=13), e realizada a contagem do pólen como descrito. Após as visitas, as forrageiras também foram coletadas, mortas por congelamento e seus tórax pesados em balança de precisão (10^{-4}).

Análise dos dados

Nas comparações entre mais de dois grupos independentes foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$) e o método de Dunn para comparação posterior dos pares

($\alpha=0,05$), e para grupos dependentes o teste de Friedman ($\alpha=0,05$). Nas comparações entre dois grupos independentes (exemplo: número de grãos de pólen em flores de beringela não visitadas e visitadas uma vez) foi utilizado o teste de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) e grupos dependentes (exemplo: características da primeira e da segunda visita realizada pela mesma abelha) foi utilizado o teste de Wilcoxon ($\alpha=0,05$).

Análise da vibração: as médias da frequência dominante (Hz) e da amplitude de velocidade (mm/s) dos pulsos vibratórios de cada abelha foram calculadas (médias de 3 a 108 pulsos por abelha nas análises do tomate e de 18 a 76 nas análises de beringela) e a partir desses valores as médias para cada espécie (detalhes no capítulo 2, figura 2.4).

Todas as correlações foram avaliadas utilizando o teste de correlação de Spearman ($\alpha=0,05$).

As análises foram realizadas nos programas BioEstat, Statistica e Sigma Plot.

Resultados

A qualidade do tomate e a taxa de frutificação dependem do número de visitas recebidas pela flor?

As forrageiras utilizadas nos experimentos em tomate apresentaram peso médio do tórax de $48,3 \pm 11,4$ mg ($n=20$), sendo que o peso máximo foi de 68,8 mg e o mínimo de 26,1 mg, ou seja, a maior operária apresentava um cerca de três vezes mais pesado que a menor. As utilizadas nos experimentos em beringela apresentaram peso médio do tórax de $53,4 \pm 19,2$ mg ($n=16$), sendo que o peso máximo foi de 86,3 mg e o mínimo de 22,2 mg, ou seja, a maior operária apresentava um tórax cerca de quatro mais pesado que a menor.

Houve correlação entre o número de visitas recebidas pela flor e o peso do tomate resultante (correlação de Spearman, $r=0,42$, $p<0,05$, $n=81$; figura 4.4), assim como com o número de sementes contido nesse fruto (correlação de Spearman, $r=0,49$, $p<0,05$, $n=81$; figura 4.5). No entanto, e apesar de haver diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (Kruskall-Wallis, $p<0,05$), não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre o peso (comparação pelo método de Dunn, $p>0,05$, figura 4.6) e o número de sementes (comparação pelo método de Dunn, $p>0,05$, figura 4.7) dos frutos formados com uma, duas, três, quatro visitas ou inúmeras visitas.

Houve correlação entre o peso dos frutos e o número de sementes (correlação de Spearman, $r=0,84$, $p<0,05$, $n=129$; figura 4.8). A taxa de frutificação para o grupo C (nenhuma visita, $n=18$), 2V ($n=16$), 4V ($n=18$) e C2 ($n=16$) foi de 100%, para o grupo 1V ($n=16$) de 93,8% (um fruto, sendo a flor foi abortada após stress hídrico de um dia causado por uma falha no sistema de irrigação), 3V ($n=17$) de 88,2% (dois frutos, o mesmo que ocorreu em 1V), IV (inúmeras visitas; $n=20$) de 90% e PF ($n=16$) de 75%.

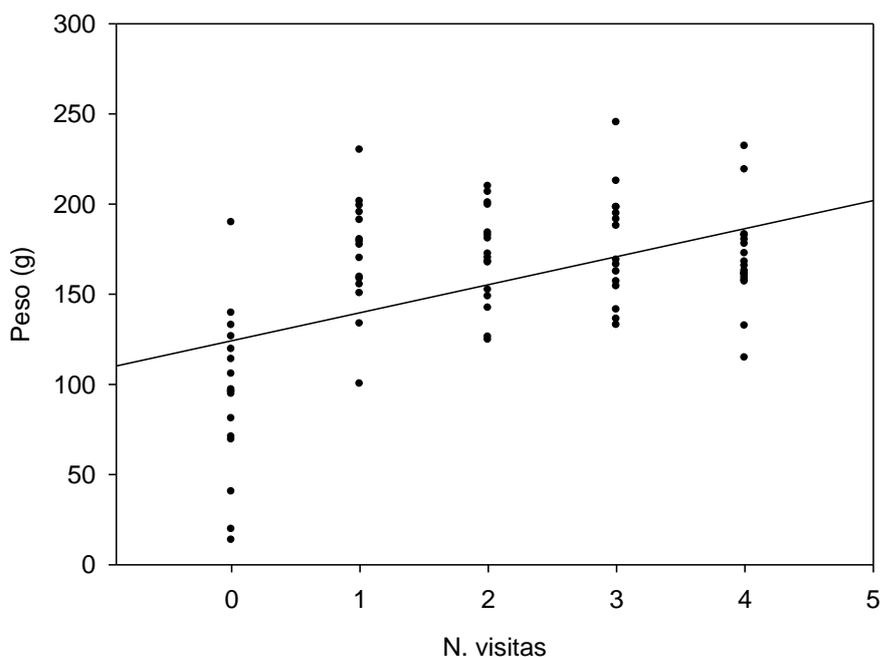


Figura 4.4. Correlação entre o número de visitas de *Bombus impatiens* recebidas pela flor de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) e o peso do tomate resultante (correlação de Spearman, $r=0,42$, $p<0,05$, $n=81$).

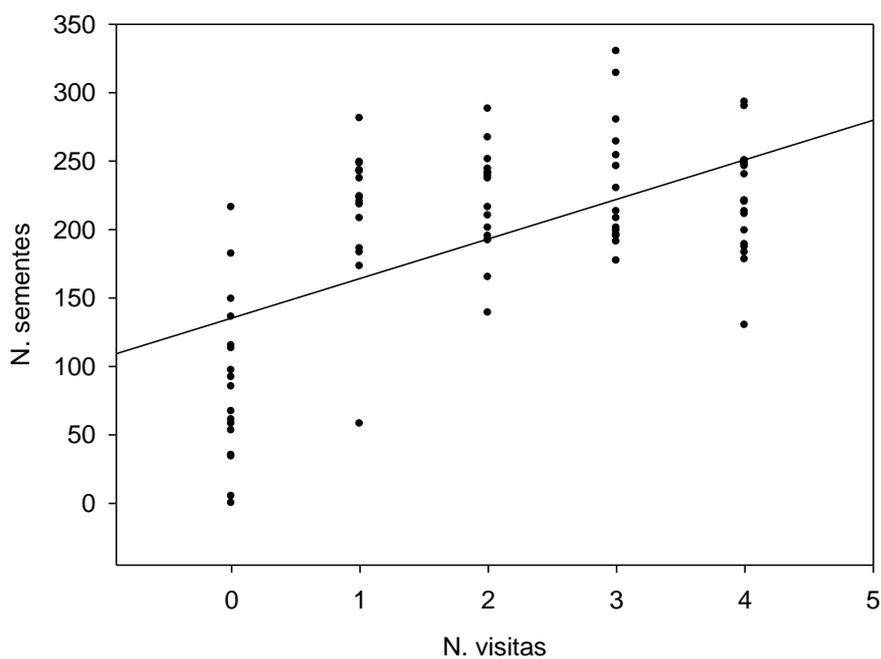


Figura 4.5. Correlação entre o número de visitas de *Bombus impatiens* recebidas pela flor de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) e o número de sementes contido nesse fruto (correlação de Spearman, $r=0,49$, $p<0,05$, $n=81$).

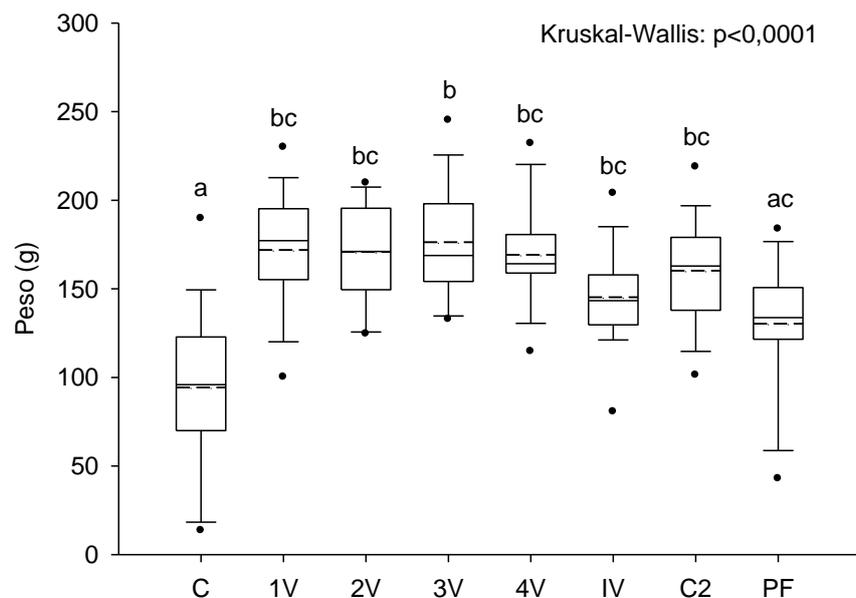


Figura 4.6. Peso médio dos tomates (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) originados de flores não visitadas (controle - C), flores que receberam uma visita (1V), duas visitas (2V), três visitas (3V), quatro visitas (4V) e visitação livre por oito horas (IV) e de uma visita em flores com silicone na sua superfície (controle - C2) e com o poro da antera fechado com silicone (PF). Visitas realizadas por *Bombus impatiens*. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

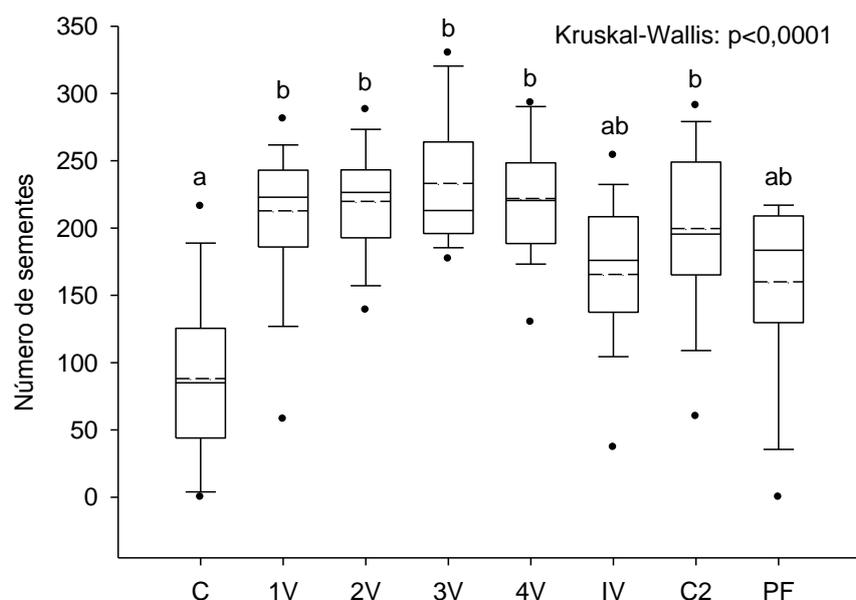


Figura 4.7. Número de sementes dos tomates (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) originados de flores não visitadas (controle - C), flores que receberam uma visita (1V), duas visitas (2V), três visitas (3V), quatro visitas (4V) e

visitação livre por oito horas (IV) e de uma visita em flores com silicone na sua superfície (controle - C2) e com o poro da antera fechado com silicone (PF). Visitas realizadas por *Bombus impatiens*. Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskall-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

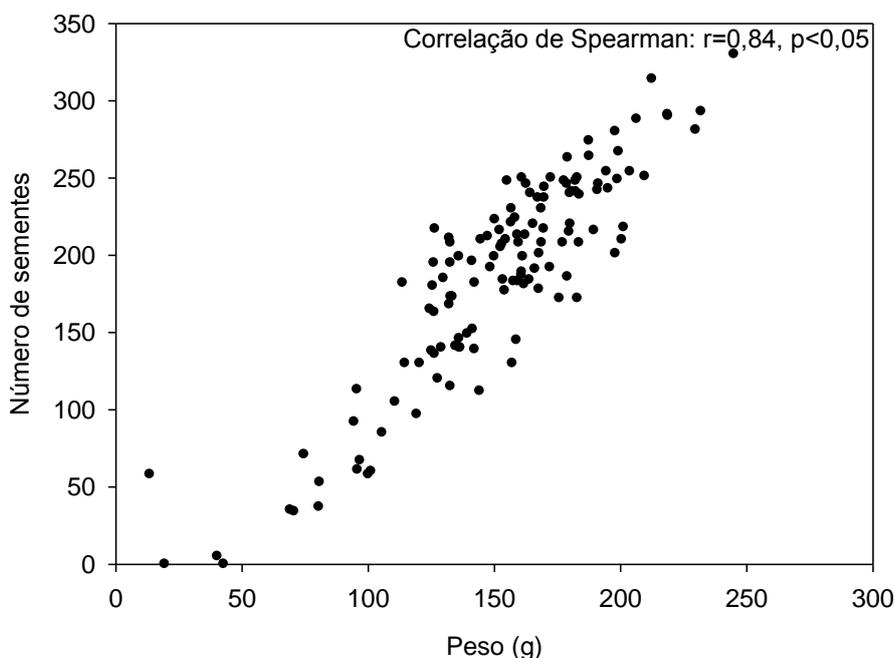


Figura 4.8. Correlação entre o peso dos tomates (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) e o número de sementes presentes nesses frutos (correlação de Spearman, $r=0,84$, $p < 0,05$, $n=129$).

Relação entre a qualidade do tomate e o tamanho (peso do tórax) da forrageira.

Não houve correlação entre o peso da forrageira que polinizou a flor e o peso do fruto resultante (correlação de Spearman, $r=0,00$, $p > 0,05$, $n=88$; figura 4.9a) e o número de sementes presentes nesse fruto (correlação de Spearman, $r=0,10$, $p > 0,05$, $n=88$; figura 4.9b).

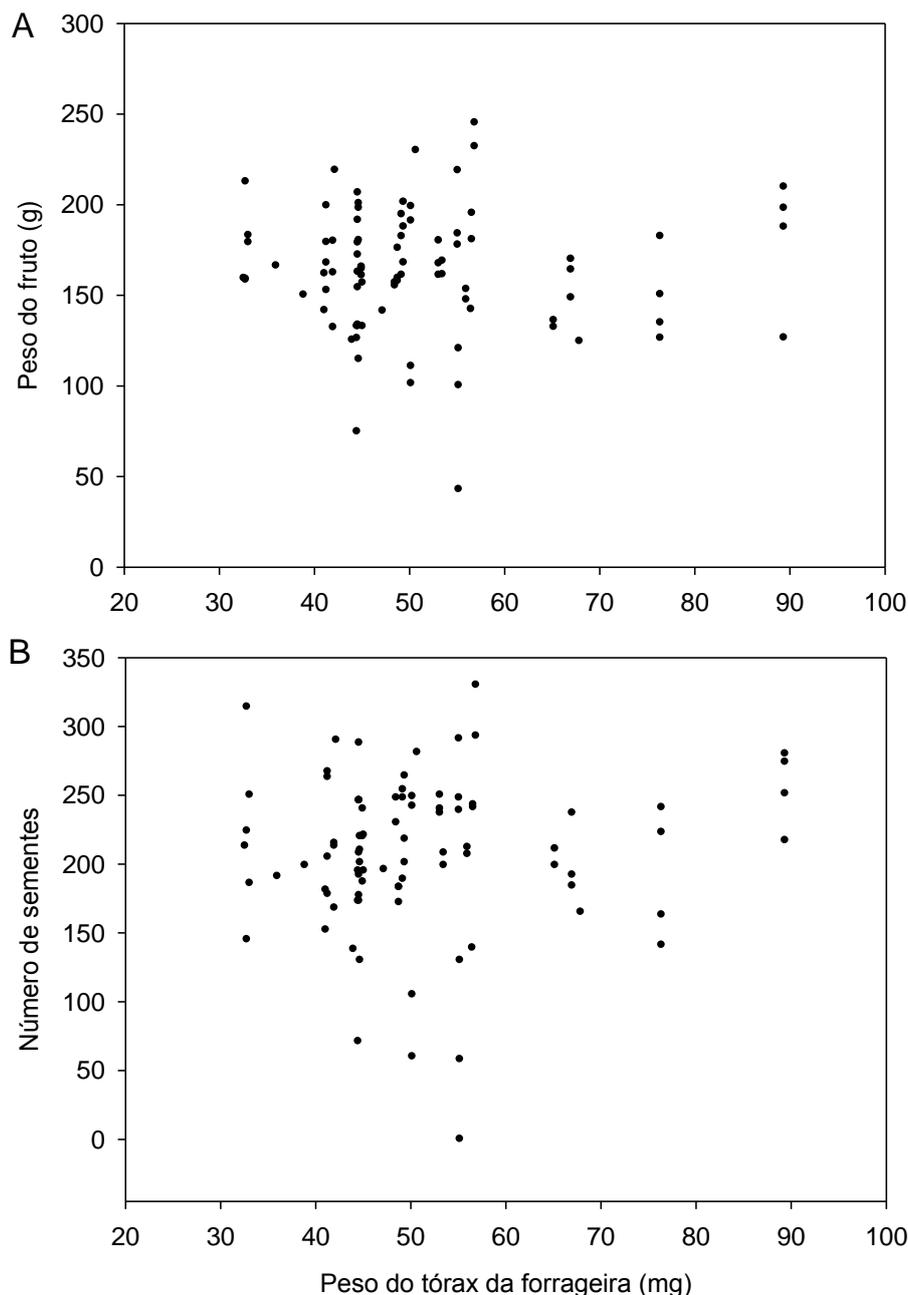


Figura 4.9. Correlação entre o peso da forrageira de *Bombus impatiens* que polinizou a flor e (A) o peso do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) resultante (correlação de Spearman, $r=0,00$, $p>0,05$, $n=88$) e (B) o número de sementes presentes nesse fruto (correlação de Spearman, $r=0,10$, $p>0,05$, $n=88$).

Relação entre o tamanho das forrageiras, a quantidade de pólen removida da flor e as características físicas das vibrações torácicas produzidas por elas.

Não encontramos correlação estatisticamente significativa entre a frequência dominante e o peso do tórax da forrageira (tabela 4.1; figura 4.10), e entre essas variáveis e a quantidade de pólen restante nas flores de tomate após uma e quatro visitas (tabela 4.1; figura 4.11). O mesmo ocorreu para a amplitude de velocidade da vibração da forrageira (tabela 4.2; figura 4.12 e 4.13).

Tabela 4.1. Coeficientes de correlação de Spearman entre a frequência dominante (FD) das forrageiras de *Bombus impatiens* e o peso de seu tórax (PT), e entre essas variáveis e a quantidade de pólen restante nas flores (NP) de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) depois de uma (1V) e quatro visitas (4V).

Tratamento		FD (Hz)	NP
1V	NP	0,30 ^{ns}	-
	PT (mg)	-0,23 ^{ns}	-0,45 ^{ns}
Tratamento		FD (Hz)	NP
4V	NP	-0,32 ^{ns}	-
	PT (mg)	0,36 ^{ns}	-0,47 ^{ns}

^{ns} não significativo a $p > 0,05$

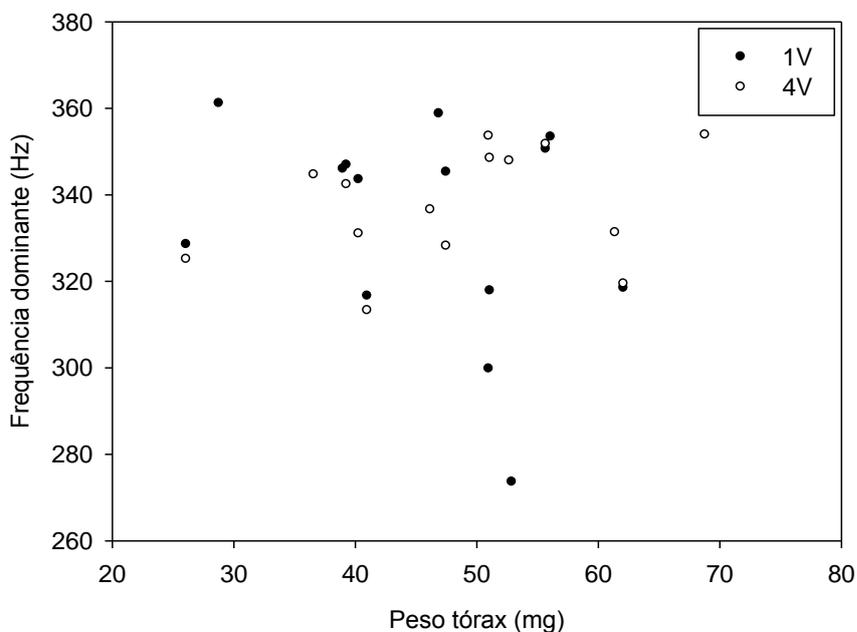


Figura 4.10. Correlação entre a frequência dominante (Hz) e o peso do tórax da forrageira de *Bombus impatiens* durante a primeira (1V) e a quarta (4V) visita as flores de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae).

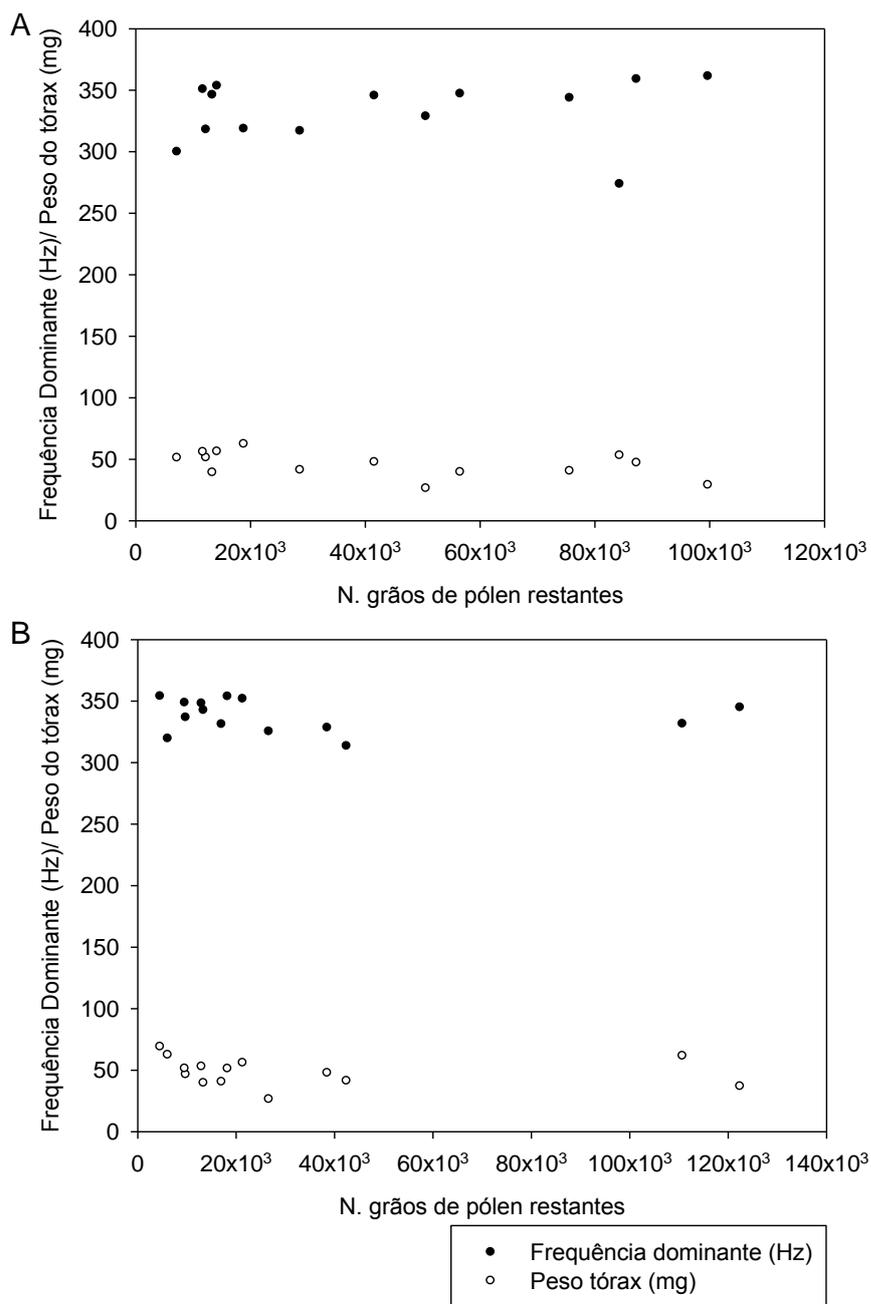


Figura 4.11. Correlação entre o número de grãos de pólen restantes na flor de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) e a frequência dominante (Hz) e o peso do tórax da forrageira de *Bombus impatiens* após uma (A) e quatro (B) visitas.

Tabela 4.2. Coeficientes de correlação de Spearman entre a amplitude de velocidade (AV) das forrageiras de *Bombus impatiens* e o peso de seu tórax (PT), e entre essas variáveis e a quantidade de pólen restante nas flores (NP) de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) depois de uma (1V) e quatro visitas (4V).

Tratamento		AV (mm/s)	NP
1V	NP	0,19 ^{ns}	-
	PT (mg)	-0,10 ^{ns}	-0,45 ^{ns}
Tratamento		AV (mm/s)	NP
4V	NP	-0,51 ^{ns}	-
	PT (mg)	0,23 ^{ns}	-0,47 ^{ns}

^{ns} não significativo a $p > 0,05$

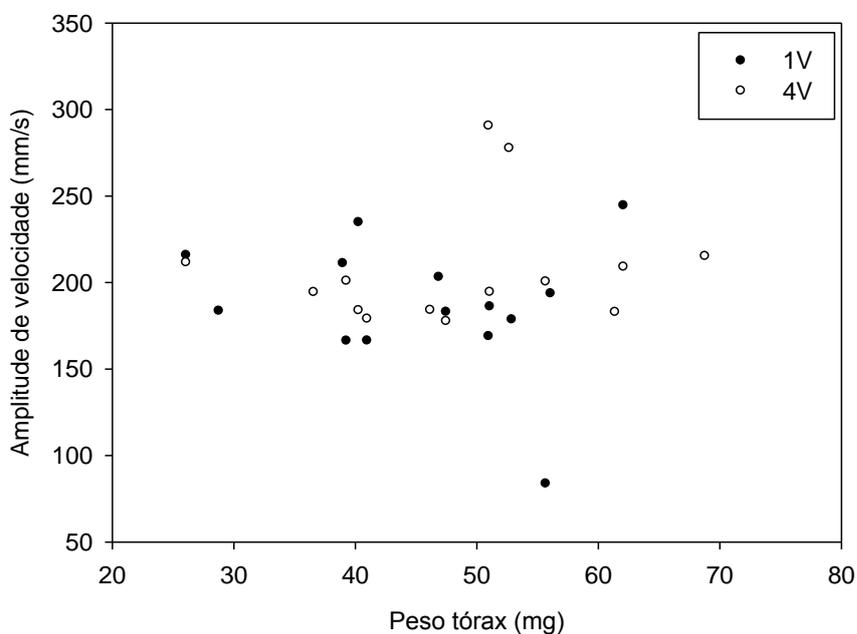


Figura 4.12. Correlação entre a amplitude de velocidade (mm/s) e o peso do tórax da forrageira de *Bombus impatiens* durante a primeira (1V) e a quarta (4V) visita as flores de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae).

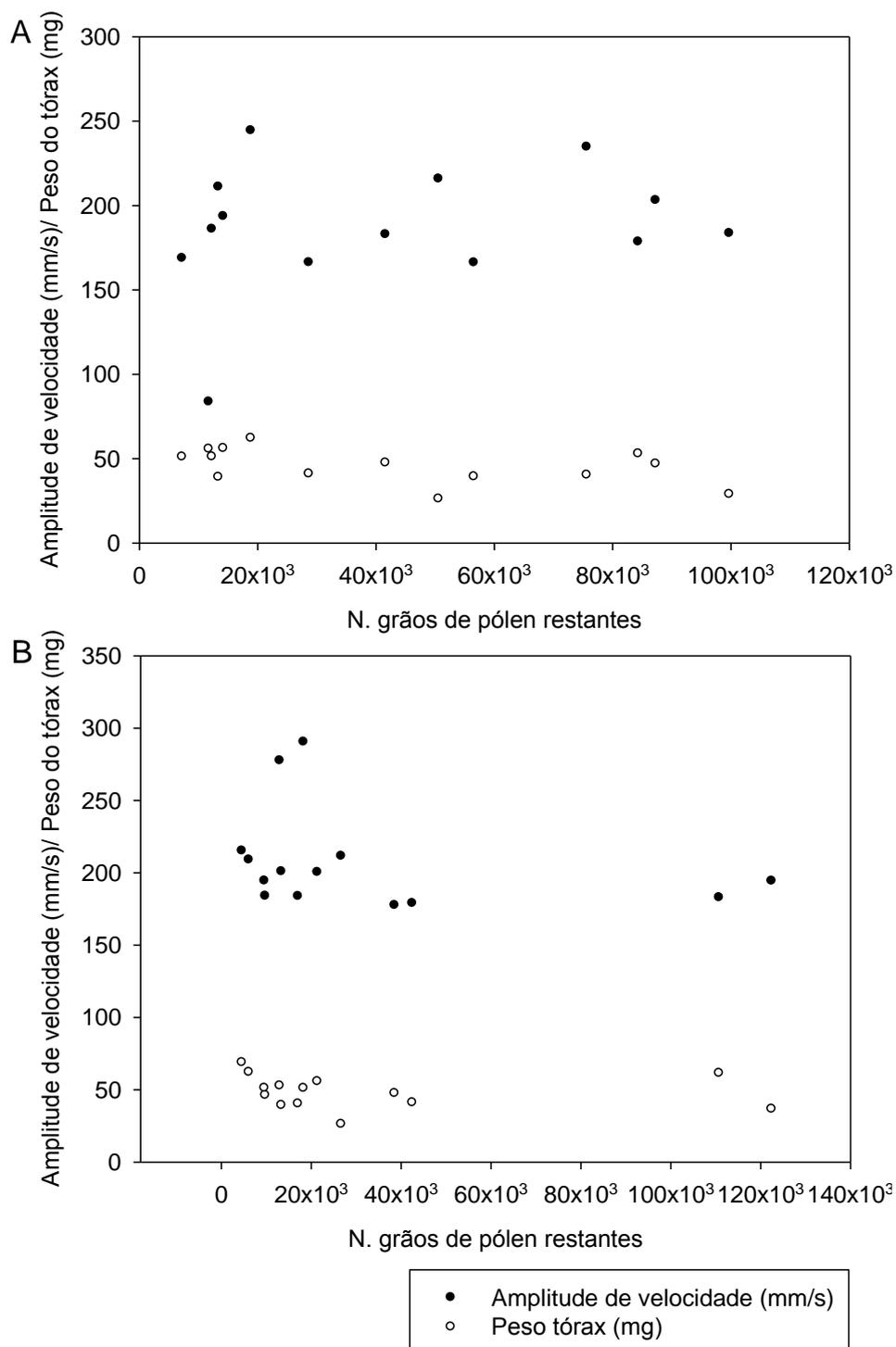


Figura 4.13. Correlação entre o número de grãos de pólen restantes na flor de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) e a amplitude de velocidade (mm/s) e o peso do tórax da forrageira de *Bombus impatiens* após uma (A) e quatro (B) visitas.

O número médio de grãos de pólen contidos em uma flor de beringela foi de 327.990 ± 95.123 . O número médio de grãos de pólen contidos em uma flor de beringela após uma visita foi de 107.952 ± 118 . Dessa forma, em uma visita uma forrageira retira, em média, 67,1% do pólen presente em uma flor.

Houve diferença entre o número médio de grãos de pólen presentes em uma flor não visitada e o número médio de grãos de pólen restantes em uma flor de beringela visitada uma vez (Mann-Whitney, $p=0,0012$; figura 4.14).

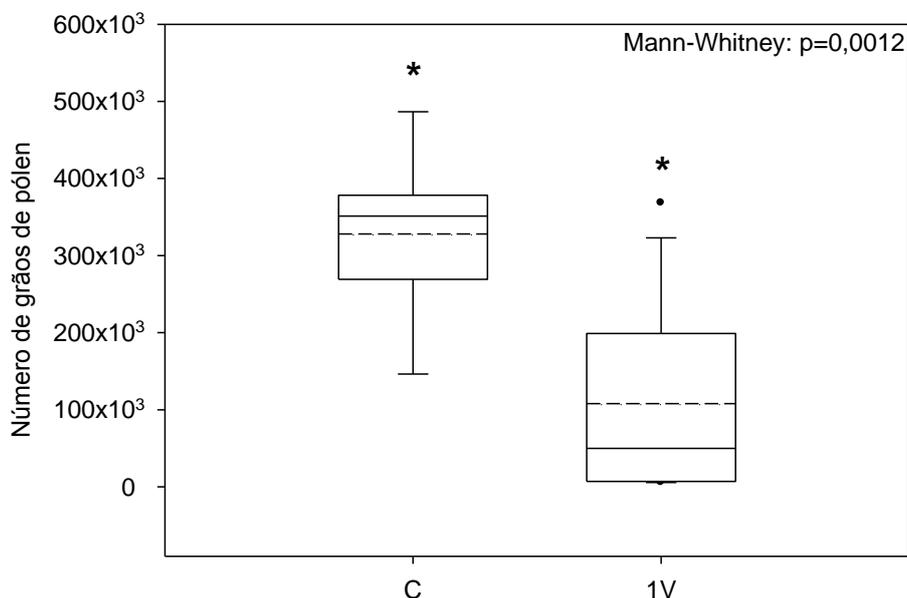


Figura 4.14. Número de grãos de pólen presentes em uma flor de beringela (*Solanum melongena* L. var. Carmon) não visitada (C) e após uma visita (1V) de uma forrageira de *Bombus impatiens*. O asterisco indica diferença estatística a $p < 0,05$ (Mann-Whitney). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

Não encontramos correlação estatisticamente significativa entre a frequência dominante e o peso de seu tórax (tabela 4.3; figura 4.15), e entre essas variáveis e a quantidade de pólen restante nas flores de beringela após uma visita (tabela 4.3; figura 4.16). O mesmo ocorreu para a amplitude de velocidade da vibração da forrageira (tabela 4.3; figura 4.16).

Tabela 4.3. Coeficientes de correlação de Spearman entre a frequência dominante (FD) e a amplitude de velocidade (AV) das forrageiras de *Bombus impatiens* e o peso de seu tórax (PT), e entre essas variáveis e a quantidade de pólen restante nas flores (NP) depois de uma visita a flores de beringela (*Solanum melongena* L. var. Carmon).

	FD (Hz)	AV (mm/s)	NP
AV (mm/s)	-0,33 ^{ns}	-	-
NP	-0,30 ^{ns}	0,23 ^{ns}	-
PT (mg)	0,16 ^{ns}	0,34 ^{ns}	-0,35 ^{ns}

^{ns} não significante a $p > 0,05$

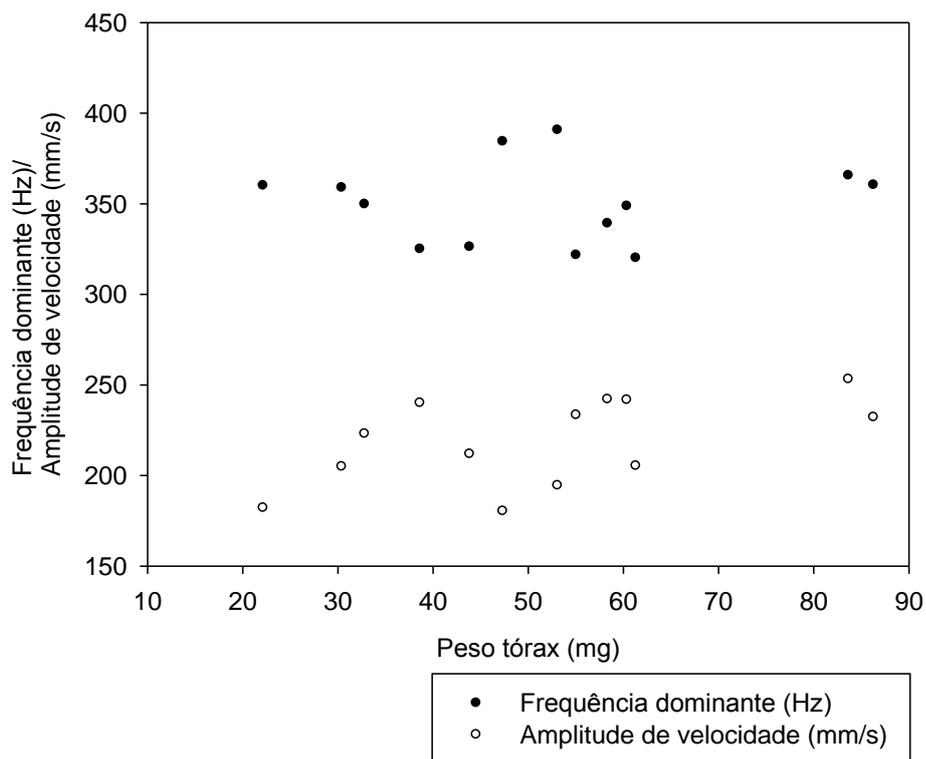


Figura 4.15. Correlação entre a frequência dominante (Hz) e a amplitude de velocidade (mm/s), e o peso do tórax da forrageira de *Bombus impatiens* durante a primeira visita às flores de beringela (*Solanum melongena* L. var. Carmon).

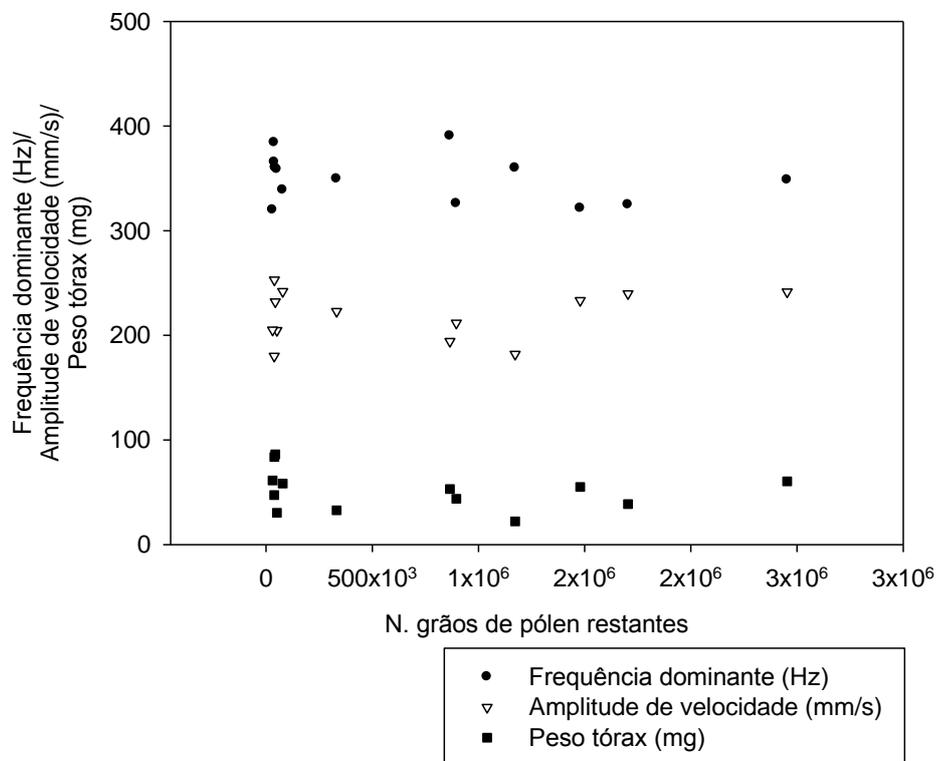


Figura 4.16. Correlação entre o número de grãos de pólen restantes na flor de beringela (*Solanum melongena* L. var. Carmon) e a frequência dominante (Hz) e a

amplitude de velocidade (mm/s) e o peso do tórax da forrageira de *Bombus impatiens*.

Capacidade das forrageiras de B. impatiens em avaliar a quantidade de pólen disponível em uma flor durante a polinização.

O número médio de grãos de pólen contidos em uma flor de tomate não visitada (controle) foi de 96.561 ± 28.220 , após uma visita foi de 40.768 ± 32.701 e após quatro visitas foi de 30.595 ± 36.794 . Dessa forma, em uma visita uma forrageira retira, em média, 57,8% do pólen presente em uma flor e após quatro visitas 68,3%.

Houve diferença entre o número médio de grãos de pólen presentes em uma flor não visitada e o número médio de grãos de pólen restantes em uma flor visitada uma vez (Kruskall-Wallis, $p=0,0002$, comparação pelo método de Dunn, $p=0,0039$; figura 4.17) e quatro vezes (Kruskall-Wallis, $p=0,0002$, comparação pelo método de Dunn, $p=0,0003$; figura 4.17), porém não entre uma flor visitada uma vez e quatro vezes (Kruskall-Wallis, $p=0,0002$, comparação pelo método de Dunn, $p=1,0000$; figura 4.17).

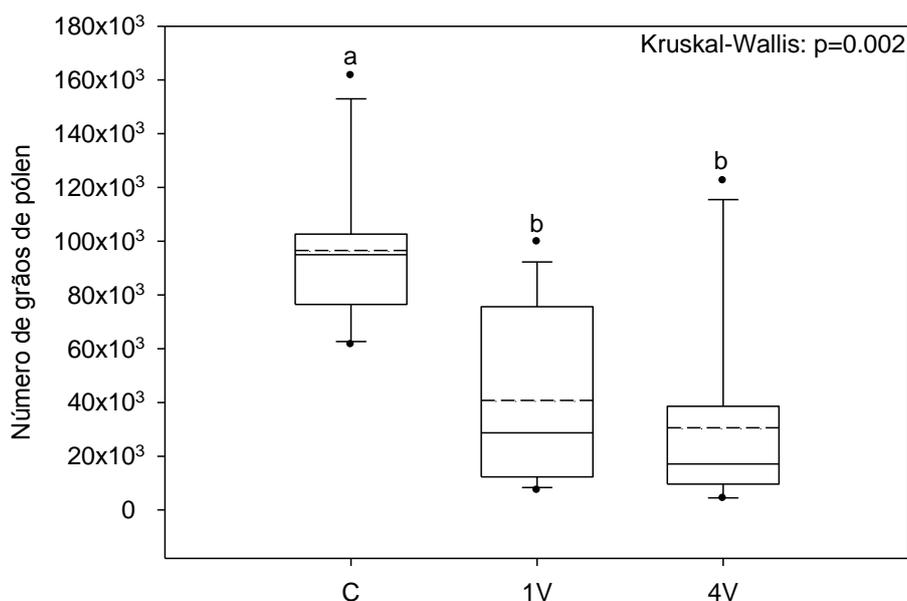


Figura 4.17. Número de grãos de pólen presentes em uma flor de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) não visitada (C), após uma visita (1V) e após quatro visitas (4V) de uma forrageira de *Bombus impatiens*. Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskall-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

A frequência dominante média e a amplitude média de velocidade da vibração das forrageiras durante a primeira visita a uma flor de tomate não apresentaram

diferença estatisticamente significativa quando comparadas com as das quartas visitas (Mann-Whitney, $p > 0,05$; figura 4.18). Essas duas características também não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando a abelha vibrava flores pela primeira vez sem (1V) e com silicone na sua superfície (C2) e flores com o poro do cone bloqueada com silicone (PF) (Kruskall-Wallis, $p > 0,05$; figura 4.19).

As primeiras visitas das forrageiras de *B. impatiens* às flores de tomate apresentaram maior duração que as visitas subseqüentes (tabela 4.4, figuras 4.20, 3.21, 3.22). Além disso, a duração das visitas às flores com acesso impedido ao pólen (com o poro do cone de anteras fechado com silicone) foi pequena quando comparada com as visitas com acesso ao pólen (tabela 4.4, figura 4.23). A duração das visitas às flores com silicone em sua superfície foi similar à duração das primeiras visitas, mostrando que o silicone utilizado para fechar o poro do cone de anteras não interferiu no comportamento da abelha (tabela 4.4, figura 4.23).

Tabela 4.4. Duração total média, mínima e máxima que as forrageiras permaneceram pousadas durante as visitas às flores de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarance, Solanaceae) durante os tratamentos de uma, duas, três e quatro visitas (primeira visita: 1V; segunda visita: 2V; terceira visita: 3V; quarta visita: 4V) e da primeira visita às flores com o poro do cone de anteras fechado com silicone (PF) e com silicone em sua superfície (C2) realizadas por *Bombus impatiens*.

		Duração total da visita (s)			
		Média \pm desvio padrão	Mínima	Máxima	N
	1V	89 \pm 71	11	242	17
Duas visitas	1V	78 \pm 61	24	269	16
	2V	32 \pm 42	3	147	
Três visitas	1V	107 \pm 83	1	323	17
	2V	24 \pm 29	1	105	
	3V	14 \pm 16	1	66	
Quatro visitas	1V	112 \pm 71	2	276	17
	2V	15 \pm 18	2	66	
	3V	30 \pm 60	1	247	
	4V	11 \pm 9	1	30	
	PF	12 \pm 8	1	29	16
	C2	89 \pm 70	10	292	16

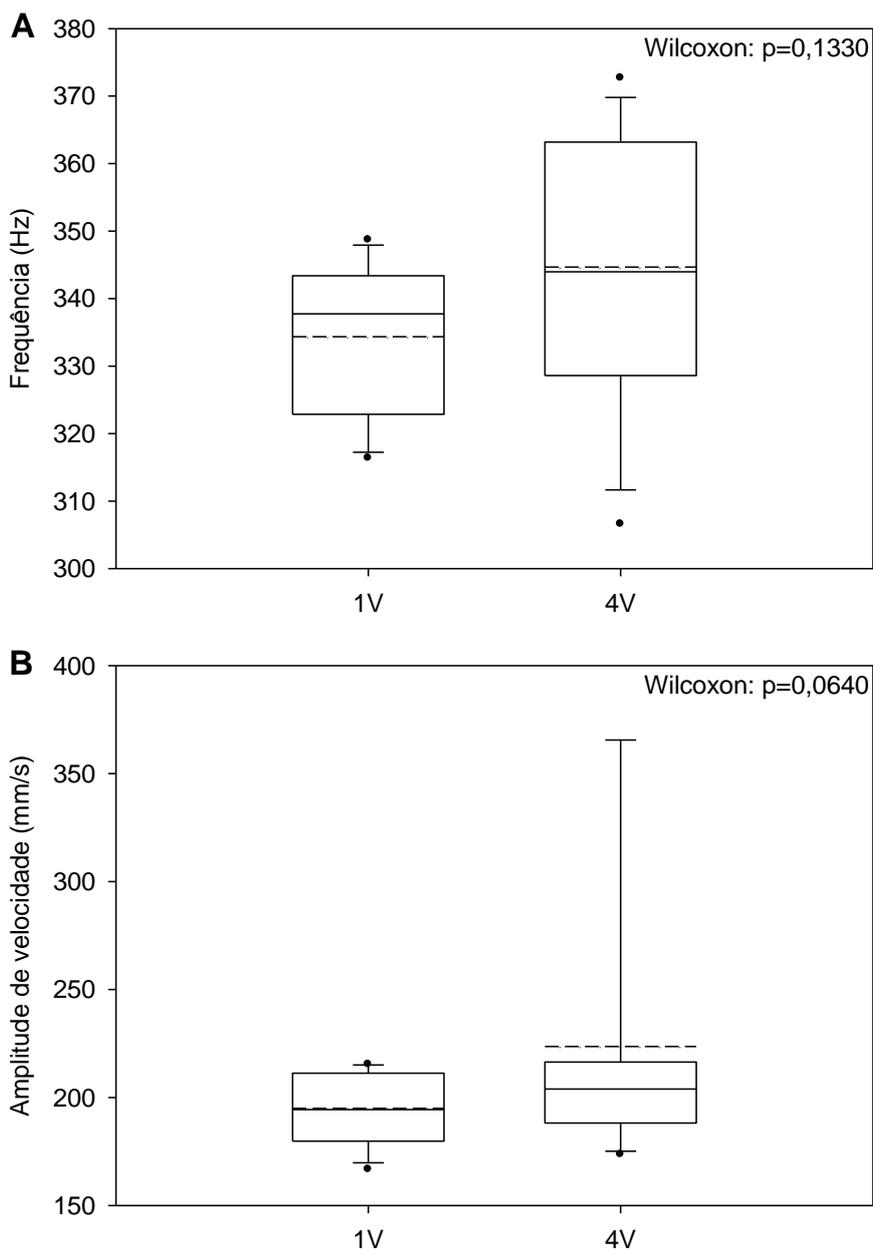


Figura 4.18. Frequência dominante (A) e a amplitude de velocidade (B) da vibração do tórax das forrageiras de *Bombus impatiens* durante a primeira (1V) e a quarta (4V) visita às flores de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

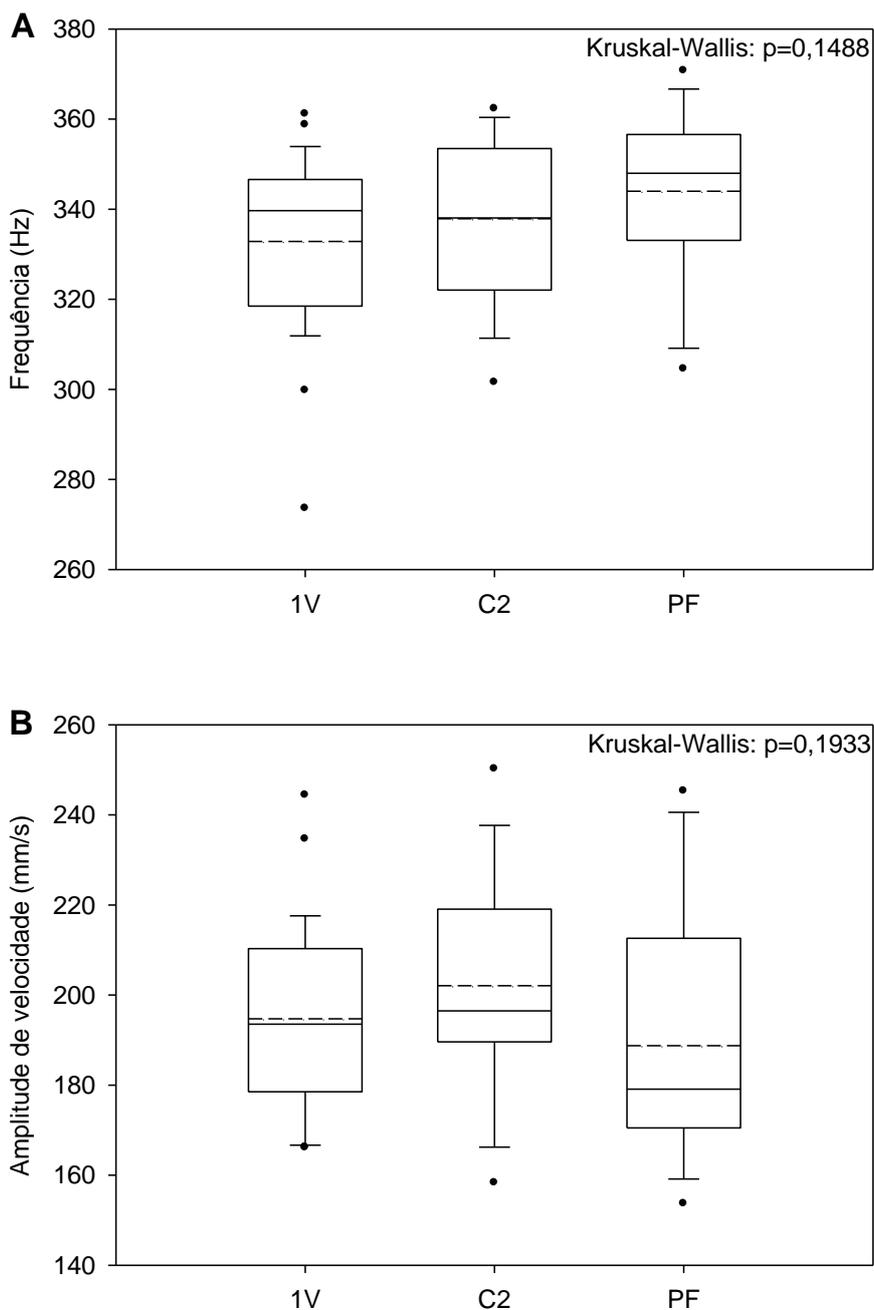


Figura 4.19. Frequência dominante (A) e a amplitude de velocidade (B) da vibração do tórax das forrageiras de *Bombus impatiens* durante a primeira visita sem (1V) e com silicone na sua superfície (C2) e em flores de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) com o poro do cone bloqueada com silicone (PF). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

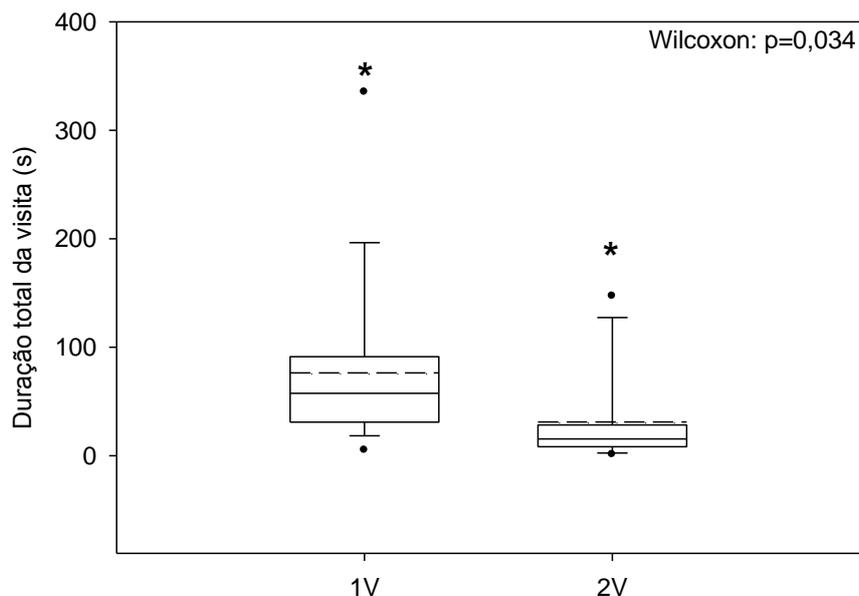


Figura 4.20. Duração total da primeira (1V) e da segunda (2V) visita realizadas pelas forrageiras de *Bombus impatiens* às flores de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae). O asterisco indica diferença estatística a $p < 0,05$ (Wilcoxon). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

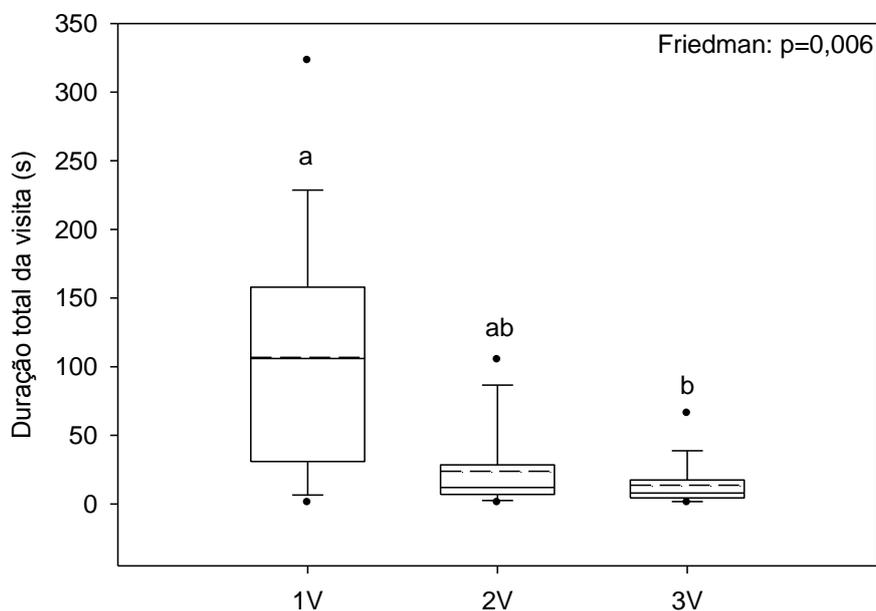


Figura 4.21. Duração total da primeira (1V), da segunda (2V) e da terceira visita realizadas pelas forrageiras de *Bombus impatiens* às flores de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae). Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Friedman). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

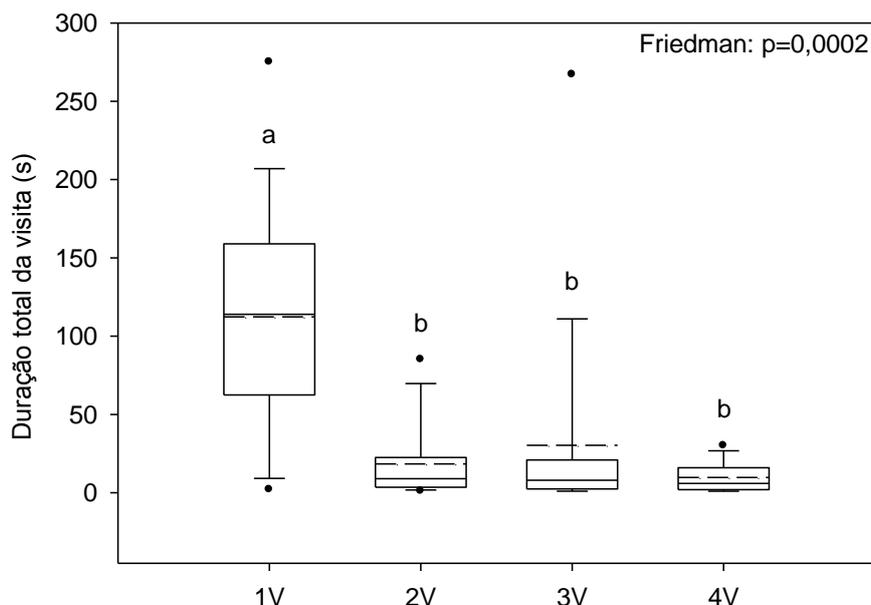


Figura 4.22. Duração total da primeira (1V), da segunda (2V), da terceira e da quarta (4V) visita realizadas pelas forrageiras de *Bombus impatiens* às flores de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae). Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Friedman). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

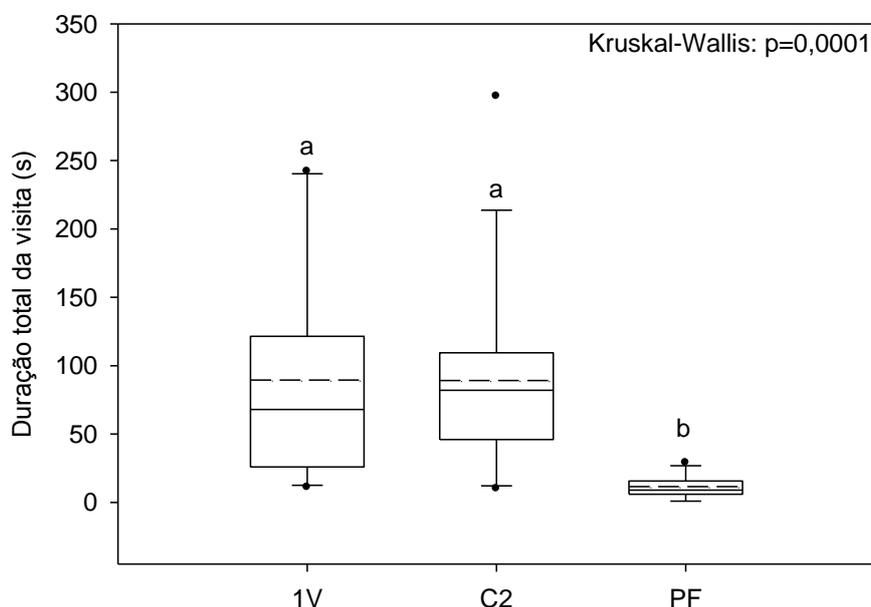


Figura 4.23. Duração total da primeira visita sem (1V) e com silicone na sua superfície (C2) e em flores de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) com o poro do cone bloqueada com silicone (PF) realizadas pelas forrageiras de *Bombus impatiens*. Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Wilcoxon). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a

média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

A vibração torácica das forrageiras durante a polinização de plantas diferentes.

As características físicas (frequência dominante e amplitude de velocidade) das vibrações das forrageiras de *B. impatiens* foram diferentes durante a polinização de flores de tomate e de beringela (Mann-Whitney, $p < 0.05$; figura 4.24).

Houve diferença estatisticamente significativa entre a quantidade de pólen presente nas anteras de flores de tomate e beringela não visitadas (Mann-Whitney, $p < 0,05$; figura 4.25A). No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre a quantidade de pólen presente nas anteras de flores de tomate e beringela após a primeira visita por uma forrageira (Mann-Whitney, $p > 0,05$; figura 4.25B). As forrageiras retiram uma maior porcentagem de pólen das flores de beringela (67,1%) na primeira visita do que em flores de tomate (57%). Assim, as flores de beringela fornecem uma maior quantidade de pólen na primeira visita.

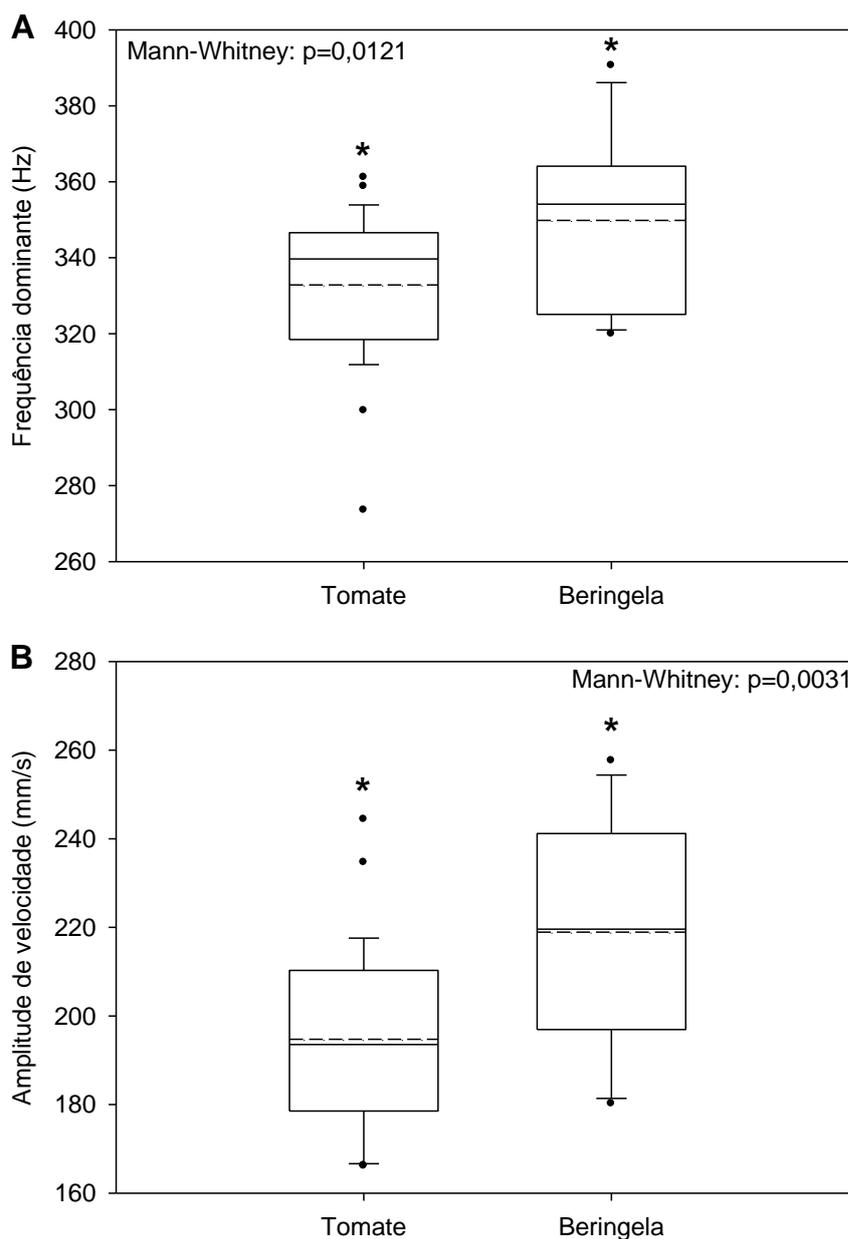


Figura 4.24. Frequência dominante (A) e a amplitude de velocidade (B) da vibração do tórax das forrageiras de *Bombus impatiens* durante a polinização de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) e beringela (*Solanum melongena* L. var. Carmon). O asterisco indica diferença estatística a $p < 0,05$ (Mann-Whitney). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

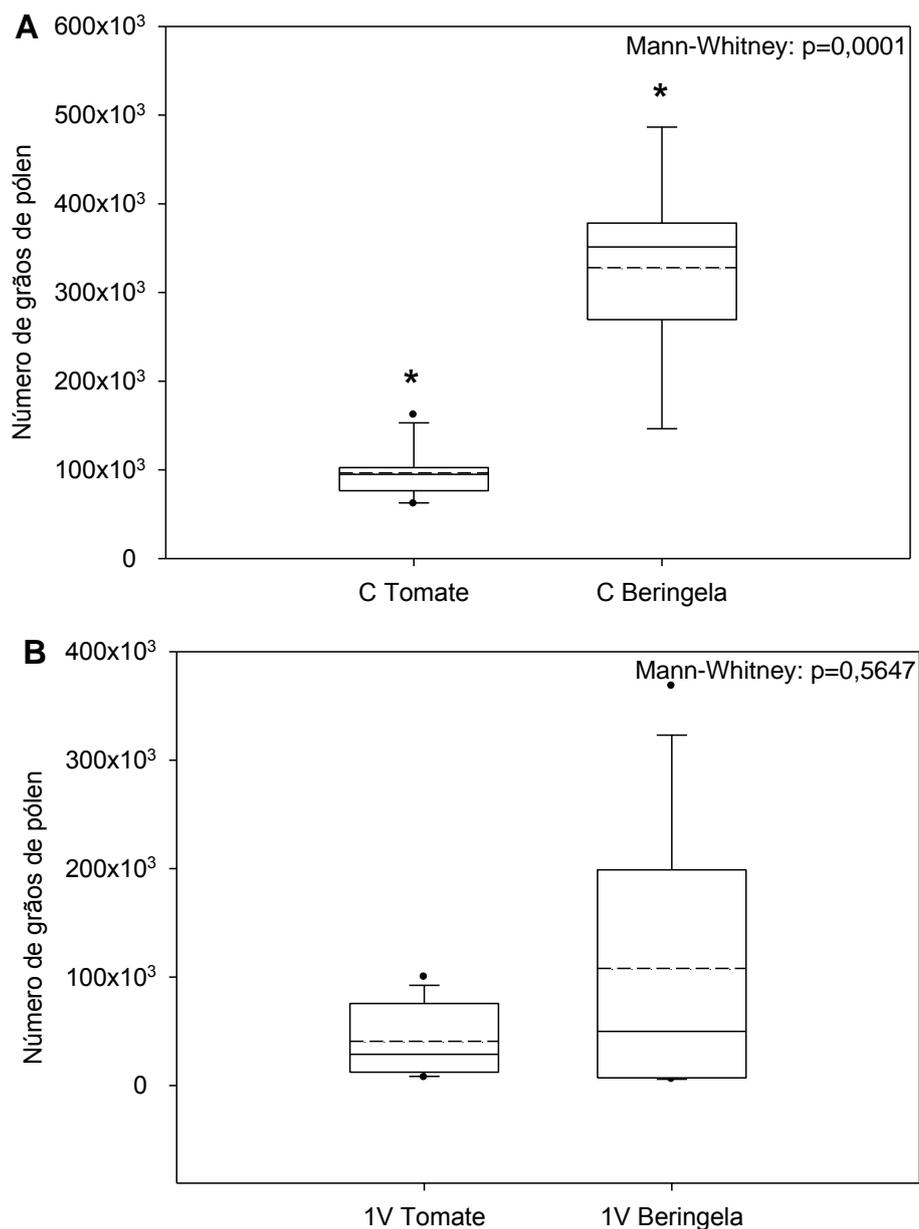


Figura 4.25. Comparação entre o número de grãos de pólen presentes em: (A) flores não visitadas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill var. Clarence, Solanaceae) e beringela (*Solanum melongena* L. var. Carmon) e (B) visitadas uma vez por forrageiras de *Bombus impatiens*. O asterisco indica diferença estatística a $p < 0,05$ (Mann-Whitney). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

Discussão

A polinização pelas abelhas do gênero *Bombus* leva a uma maior produção de tomates, os quais também apresentam qualidade superior (mais pesados e com mais sementes), garantindo melhores preços de venda aos produtores (ver Velthuis & van Doorn, 2006). Embora nesse estudo não tenha sido detectado uma diminuição na frutificação no grupo controle (sem visitas), os resultados mostram que apenas uma visita é necessária para garantir a produção de tomates com qualidade superior a de flores não visitadas, visto que, apesar de haver correlação positiva entre o número de visitas e o peso e o número de sementes dos frutos (figuras 4.4 e 4.5), não houve diferença entre o peso e o número de sementes dos frutos originados de uma, duas, três e quatro visitas (figura 4.6 e 4.7). Outros estudos corroboram os resultados encontrados. Morandin e colaboradores (2001b) examinaram a qualidade do tomate em relação à intensidade de visita utilizando o nível de marcas necróticas (*bruising level*) no cone de anteras das flores e não encontraram aumento de peso acima do nível um, que corresponde a uma visita. Também não encontraram aumento no número de sementes acima do nível dois, que corresponde a uma ou duas visitas. Dessa maneira, esses pesquisadores sugerem que um nível de marcas necróticas de 1 a 2 é suficiente para garantir a frutificação e a qualidade dos tomates produzidos em casa de vegetação.

Uma possível explicação, levantada a partir de nossos resultados, é que as abelhas são capazes de tirar uma maior quantidade de pólen da flor durante a primeira visita em relação às visitas subseqüentes (figura 4.17) e dessa maneira, quantidade suficiente de pólen para a fecundação dos óvulos deve ser depositada no estigma na primeira e segunda visita, quando uma maior quantidade é ejetada. Assim, as visitas subseqüentes não aumentam a quantidade de pólen depositada de forma a aumentar a quantidade de sementes formadas e, dessa forma, o peso do fruto, visto que houve correlação entre quantidade de sementes e peso do fruto (figura 4.8).

A parte reprodutiva da flor de tomate é constituída por um cone de anteras e o pistilo da flor é envolvido por esse cone (Rick & Robinson, 1951). O estigma pode estar no interior do cone, na altura do poro do cone ou na parte exterior, logo abaixo do poro do cone (Rick & Robinson, 1951; Mc Gregor, 1976). Essa estrutura permite que haja uma auto-polinização automática, pois quando o pólen é liberado das anteras, vai para a câmara que circunda o estilete e sai pelo poro do cone, passando pelo estigma (Rick & Robinson, 1951; figura 4.3B). Já foi demonstrado que flores com o estigma em posições mais próximas do cone de anteras favorecem a auto-polinização e a frutificação (Rick & Dempsey, 1969; Levy *et al.*, 1978), sendo que em *Lycopersicon pimpinellifolium* a extrusão do estigma para fora do cone de anteras está correlacionada a taxa de correlação cruzada e extrusões de mais de 1.5 mm interferem com a auto-polinização automática (Rick *et al.*, 1978).

As flores utilizadas nos experimentos possuíam o estigma no interior ou na altura do poro do cone e assim, quanto maior a quantidade de pólen ejetada das anteras do cone, maior deve ser a quantidade de pólen que atinge o estigma, visto que

o pólen obrigatoriamente passa pela região onde o estigma se encontra para sair do cone. O mesmo deve ocorrer com as flores que possuem o estigma no exterior da flor (não testadas aqui), pois uma maior quantidade de pólen ejetada deve aumentar a probabilidade do pólen ser depositado no estigma ao sair do cone ou pelo corpo da abelha que está posicionado logo abaixo dele, já que as abelhas agarram o cone e tocam o estigma ao vibrá-lo. Essa é uma hipótese a ser testada.

Além disso, durante os experimentos foi observado que as flores dos tomateiros que permaneceram o tempo todo na gaiola com a colônia de *B. impatiens* foram tão intensamente visitadas que tiveram os cones de anteras destruídos e foram abortadas (figura 4.26). Um alto nível de visita pode danificar os órgãos reprodutivos, causar perda prematura da flor e levar ao não desenvolvimento do fruto (Morandin *et al.*, 2001a; Morse, 2009). Assim, ao planejar o número de colônias a ser colocado em uma casa de vegetação os produtores devem levar em consideração que não são necessárias muitas visitas às flores para garantir a produção de tomates de qualidade, garantindo que as flores não sejam destruídas por intensa visitação. Morandin e colaboradores (2001a) sugerem que de 7 a 15 colônias de *B. impatiens* por hectare são suficientes para garantir uma polinização adequada.

Encontramos variação no peso do tórax das forrageiras, no entanto, forrageiras maiores (tórax mais pesado) não produziram tomates com mais sementes ou mais pesados. Além disso, não retiraram maiores quantidades de pólen da flor. Baseado no mecanismo de auto-polinização descrito por Rick & Robinson (1951) e na hipótese proposta acima para explicar a influência do número de visitas no peso e no número de sementes dos frutos, o fato de forrageiras maiores não retirarem mais pólen da flores e não levarem a produção de tomates maiores é esperado. Se operárias maiores retirassem mais pólen que as menores, seria esperado que produzissem tomates maiores, visto que a quantidade de grãos de pólen disponíveis para atingir o estigma das flores seria maior.

Ao longo da vida das colônias o tamanho das operárias de *B. impatiens* tende a diminuir (Couvillon *et al.*, 2010) e se o tamanho dessas operárias fosse um fator que afetasse a polinização os produtores deveriam trocar as colônias a fim de garantir a produção de operárias maiores. No entanto, os resultados mostram que não há necessidade para tal preocupação.

Como as forrageiras não mudaram sua vibração em flores visitadas anteriormente e nós não encontramos diferença na qualidade de frutos originados de flores visitadas uma e quatro vezes, não foi possível inferir se a qualidade dos frutos pode estar relacionada às características da vibração.

Os resultados indicaram que as forrageiras de *B. impatiens* são capazes de detectar a quantidade de pólen disponível em uma flor enquanto a visitam, entretanto, elas não alteram as características físicas da vibração, mas gastam menos tempo em flores com menor quantidade de pólen disponível. *B. sonorus* e *Ptiloglossa arizonensis* ao visitar *Solanum elaeagnifolium* (Buchmann & Cane, 1989) também são capazes de detectar a quantidade de pólen disponível em uma flor e ajustar seu comportamento de forrageamento, gastando mais tempo em flores não visitadas

anteriormente (Buchmann & Cane, 1989). Em estudos similares com outras espécies de abelhas e plantas o mesmo foi encontrado (Harder, 1990; Shelly *et al.*, 2000).



Figura 4.26. Flores de tomate com cone de anteras destruído e mostrando sinais de que serão abortadas (setas vermelhas).

O mecanismo de percepção da quantidade de pólen disponível ou retirado da flor ainda é desconhecido e não há nenhum proposto, pelo que sabemos. Hodges & Miller (1981) afirmam que as abelhas não são capazes de avaliar a quantidade de pólen obtido após uma visita, somente após várias, e que deve ser difícil para as abelhas porque esse recurso é depositado sobre o corpo e não é ingerido. No entanto, como dito anteriormente, as abelhas são capazes de avaliar a quantidade de pólen obtido. Durante a visita observamos, assim como Buchmann & Cane (1989), que as abelhas se limpam diversas vezes e transferem o pólen para as corbículas. Talvez seja durante esse processo que elas avaliem a quantidade de pólen. Também é possível que elas possam perceber quando o pólen cai em seus corpos, provavelmente através dos pêlos sensíveis a estímulos táteis, chamados de sensilas tricóideas (McIver, 1975). Maiores investigações são necessárias para determinar como as abelhas avaliam a quantidade de pólen obtido durante as visitas às flores.

B. impatiens alterou somente o tempo de visita à flor, não havendo mudança nas características físicas de sua vibração (frequência dominante e amplitude de velocidade) em resposta a quantidade de pólen disponível na flor. Esse resultado está de acordo com o mecanismo que King & Buchmann (1996) sugerem para a liberação

de pólen. O mecanismo sugerido depende da desidratação do fluido do tapete da antera, que é gradual e assim o pólen é liberado ao longo do tempo e não de uma mudança na frequência natural dos estames (King & Buchmann, 1996).

Constatamos que forrageiras de tamanhos diferentes não produzem vibrações com características físicas (frequência e velocidade) diferentes e não retiram quantidades diferentes de pólen das flores de tomate e beringela. Segundo Buchmann & Hurley (1978) as abelhas diferem nas características físicas de suas vibrações, como frequência e energia, de acordo com o tamanho. A aceleração e a velocidade também dependem do tamanho do tórax das abelhas, visto que essa característica está correlacionada com a massa dos músculos de vôo, que determina a força da vibração (Buchmann *et al.*, 1977; Morse, 1981; King & Buchmann, 1995, 1996; Hrcir *et al.*, 2008). Esse fato não foi suportado por esse estudo ou a variação de peso torácico encontrada entre as operárias de *B. impatiens* não foi suficiente para demonstrar essa hipótese, porém, ainda é preciso calcular a aceleração que essas abelhas produziram para verificar se o mesmo ocorre com essa característica. Mais estudos são necessários para determinar o papel do peso torácico na capacidade vibratória das abelhas e como essa capacidade influencia na retirada de pólen das flores com anteras poricidas, considerando também a frequência, a velocidade e a aceleração que as flores devem ser submetidas para que o pólen seja retirado das anteras.

As forrageiras de *B. impatiens* realizaram vibrações com características físicas – frequência e velocidade – diferentes durante a polinização de espécies de plantas distintas, nesse caso comparando a vibração realizada em tomate e beringela. O mesmo ocorreu em relação à aceleração das vibrações produzidas por *B. terrestris* em flores de *Symphytum officinale* e kiwi (King, 1993).

As flores de tomate apresentaram menor quantidade de pólen disponível e as forrageiras retiraram uma menor porcentagem desse pólen na primeira visita. Assim, as flores de beringela forneceram uma maior quantidade de pólen. A diferença na frequência dominante e na amplitude de velocidade da vibração pode estar relacionada à quantidade de pólen disponível, mas relacionada às características físicas das anteras e não como resposta das abelhas a disponibilidade do recurso, visto que os resultados desse estudo mostraram que as abelhas não alteraram as características físicas da vibração frente à disponibilidade de pólen da flor (figura 4.18 e 4.19).

Outra explicação é que as flores apresentam uma “frequência natural” e as abelhas precisam vibrar as flores com frequências maiores que essa frequência natural para retirar o pólen (King & Buchmann, 1996). Não conhecemos a “frequência natural” das flores de tomate e beringela, mas é possível que essa diferença no comportamento das abelhas seja resultado da diferença dessa característica das flores. Corbet e colaboradores (1988) propõem que as abelhas vibram na mesma frequência que as anteras vibrariam naturalmente (“frequência natural”) e King & Buchmann (1996) que elas precisam vibrar as flores com frequências maiores que essa frequência natural para retirar o pólen. Entretanto, King (1993) e King & Lengoc

(1993) concluíram, a partir de seus experimentos com *S. officinale* e kiwi, que uma frequência específica não deve ser necessária.

Referências bibliográficas

ABAK K., OZDOGAN A.O., DASGAN H.Y., DERIN K. & KAFTANOGLU O. 2000. Effectiveness of bumble bees as pollinators for eggplants grown in unheated greenhouses. *Acta Horticulturae*, 514:197-203.

ABAK K., SARI N., PAKSOY M., KAFTANOGLU O. & YENINAR H. 1995. Efficiency of bumble bees on the yield and quality of eggplants and tomato grown in unheated greenhouses. *Acta Horticulturae*, 512: 268-274.

ALLEN-WARDELL G., BERNHARDT P., BURQUEZ A. BUCHMANN S., CANE J., COX P.A., DALTON V., FEINSINGER P., INGRAM M., INOUE D., JONES C.E., KENNEDY K., KEVAN P., KOPOWITZ H, MEDELLIN R., MEDELLIN-MORALES S., NABHAN G.P., PAVLIK B., TEPEDINO V., TORCHIO P. & WALKER S. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conservation Biology* 12, (1):8-17.

BANDA H.J. & PAXTON R.J. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bees. *Acta Horticulturae*, 288:194-198.

BUCHMANN S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds) *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Scientific and Academic Editions, New York, Van Nostrand Reinhold, 73-113.

BUCHMANN S.L. & CANE J.H. 1989. Bees assess pollen returns while sonicating *Solanum* flowers. *Oecologia*, 81:289-294.

BUCHMANN S.L. & HURLEY J.P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in angiosperms. *Journal of Theoretical Biology*, 72:639-657.

BUCHMANN S.L., JONES C.E. & COLIN L.J. 1977. Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *Solanum xantii* (Solanaceae) in Southern California. *The Wasmann Journal Biology*, 35:1-25.

CONSTANZA R., D'ARGE R., GROOT R., FARBERK S., GRASSO M., HANNON B., LIMBURG K., NAEEM S., PARUELO J., RASKIN R.G., SUTTON P. & VAN DEN BELT M. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253-260.

CORBET S.A., CHAPMAN H. & SAVILLE N. 1988. Vibratory collection and flower form: bumble-bees on *Actinidia*, *Symphytum*, *Borago* and *Polygonatum*. *Functional Ecology*, 2:147-155.

COUVILLON M.J., JANDT J.M., DUONG N. & DORNHAUS A. 2010. Ontogeny of worker body size distribution in bumble bee (*Bombus impatiens*) colonies. *Ecological Entomology*, 35:424-435.

- DOGTEROM M.H., MATTEONI J.A. & PLOWRIGHT R.C. 1998. Pollination of greenhouse tomatoes by the North American *Bombus vosnesenski* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(1):71-75.
- DYER A.G. & CHITTKA L. 2004. Bumblebee search time without ultraviolet light. *Journal of Experimental Biology*, 207:1683-1688.
- FREE J.B. 1975. Pollination of *Capsicum frutescens* L., *Capsicum annum* L. and *Solanum melongena* L. (Solanaceae) in Jamaica. *Tropical Agriculture*, 52(4):353-357.
- GALLAI N., SALLES J.M., SETTELE J. & VAISSIÈRE B. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68:810-821.
- GEMMILL-HERREN B. & OCHIENG A.O. 2008. Role of native bees and natural habitats in eggplant (*Solanum melongena*) pollination in Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 127(1-2): 31-36.
- HARDER L.D. 1990. Behavioral responses by bumble bees to variation in pollen availability. *Oecologia*, 94:244-246.
- HODGES C.M. & MILLER R.B. 1981. Pollinator flight directionality and the assessment of pollen returns. *Oecologia*, 50: 376-379.
- HRNCIR M., GRAVEL A.I., SCHORKOPF D.L.P., SCHMIDT V.M., ZUCCHI R. & BARTH F.G. 2008. Thoracic vibrations in stingless bees (*Melipona seminigra*): resonances of the thorax influence vibrations associated with flight but not those associated with sound production. *Journal of Experimental Biology*, 211:678-685.
- KEVAN P.G., STRAVER W.A., OFFER M. & LAVERTY T.M. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bumble bees in Ontario. *Proceedings of The Entomological Society Of Ontario*, 122:15-19.
- KEVAN P.G. & VIANA B.F. 2003. The global decline of pollination services. *Biodiversity*, 4(4):3-8.
- KING M.J. 1993. Buzz foraging mechanism in bumble bees. *Journal of Apicultural Research*, 32(1):41-49.
- KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1995. Bumble bee-initiated vibration release mechanism of *Rhododendron* pollen. *American Journal of Botany*, 82(11):1407-1411.
- KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1996. Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology*, 10:449-456.
- KING M.J. & LENGOC L. 1993. Vibratory pollen collection dynamics. *Transactions of the ASAE*, 36(1):135-140.
- KOWALSKA G. 2008. Flowering biology of eggplant and procedures intensifying fruit set – review. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortum Cultus*, 7(4):63-76.

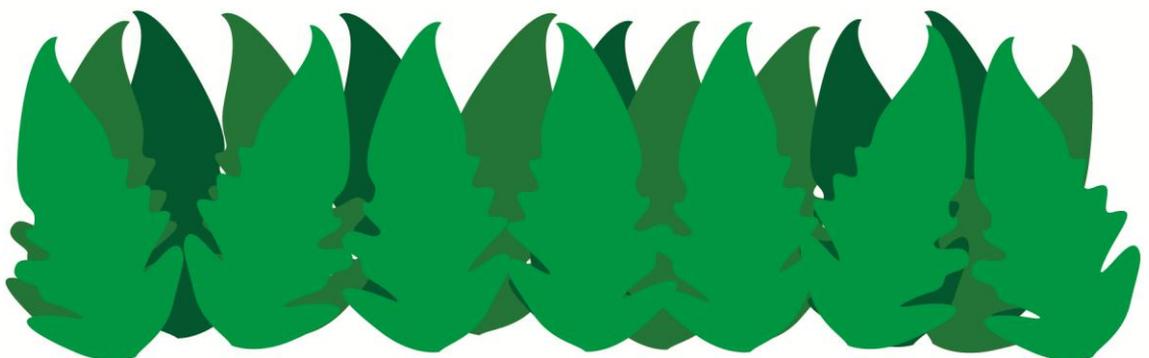
- LEFEBVRE D. & PIERRE J. 2006. Spatial distribution of bumblebees foraging on two cultivars of tomato in a commercial greenhouse. *Journal of Economic Entomology*, 99:1571–1578.
- LEVY A., RABINOWITCH H.D. & KEDAR N. 1978. Morphological and physiological characters affecting flower drop and fruit set of tomatoes at high temperatures. *Euphytica*, 27:211-218.
- MCIVER S.B. 1975. Structure of cuticular mechanoreceptors of arthropods. *Annual Review of Entomology*, 20:381-397.
- MCGREGOR S.E. 1976. *Insect pollination of cultivated crop plants*. 1 ed. Washington, DC, USDA, 411p.
- MORANDIN L.A., LAVERTY T.M. & KEVAN P.G. 2001a. Bumble bee (Hymenoptera: Apidae) activity and pollination levels in commercial tomato greenhouses. *Journal of Economic Entomology*, 94(2):462-467.
- MORANDIN L.A., LAVERTY T.M. & KEVAN P.G. 2001b. Effect of bumble bee (Hymenoptera: Apidae) pollination intensity on the quality of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 94(1): 172-179.
- MORANDIN L. A., LAVERTY T. M., KEVAN P. G., KHOSLA S. & SHIPP L. 2001c. Bumble bee (Hymenoptera: Apidea) activity and loss in commercial tomato greenhouses. *The Canadian Entomologist*, 133: 883-893.
- MORANDIN L.A., LAVERTY T.M., GEGEAR R.J. & KEVAN P.G. 2002. Effect of greenhouse polyethelene covering on activity level and photo-response of bumble bees. *The Canadian Entomologist*, 134:539-549.
- MORSE A. 2009. Floral scent and pollination of greenhouse tomatoes. Universidade de Guelph, Guelph, Dissertação de Mestrado, 130p.
- MORSE P.M. 1981. *Vibration and Sound*. New York, American Institute of Physics of the Acoustical Society of America, 433 p.
- OLLERTON J., WINFREE R. & TARRANT S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120:321–326.
- RICK C.M. & DEMPSEY W.H. 1969. Position of the stigma in relation to fruit setting of the tomato. *Botanical Gazette*, 130(3):180-186.
- RICK C.M., HOLLE M. & THORP R.W. 1978. Rates of cross pollination of *Lycopersicon pimpinellifolium*: impact of genetic variation in floral characters. *Plant systematics and evolution*, 129:31-44.
- RICKETTS T.H, REGETZ J., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A, KREMEN C., BOGDANSKI A., GEMMILL-HERREN B., GREENLEAF S.S, KLEIN A.M, MAYFIELD M.M, MORANDIN L.A, OCHIENG A. & VIANA B.F. 2008. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecology Letters*, 11:499-515.

- SHELLY T.E., VILLALOBOS E. & STUDENTS OF THE FALL 1997 OTS-USAP. 2000. Buzzing bees (Hymenoptera: Apidae, Halictidae) on *Solanum* (Solanaceae): floral choice and handling time track pollen availability. *Florida Entomologist*, 83(2):180-187.
- SHEPERD M., BUCHMANN S.L., VAUGHAN M. & BLACK S.H. 2003. *Pollinator Conservation Handbook*. The Xerces Society, Portland, 145 p.
- VAISSIÈRE B.E., FREITAS B.M. & GEMMILL-HERREN B. 2011. *Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use*. Roma, FAO, 81 p.
- VELTHUIS H.H.W. & VAN DOORN A. 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 37:421-451.



Capítulo 5:

Discussão geral
e conclusões:
comparação entre
as espécies estudadas.



Nessa tese foram investigadas a capacidade vibratória e a polinização por vibração de abelhas dos gêneros *Melipona* (Apidae; Meliponini) e *Bombus* (Apidae; Bombini). Como a vibração torácica das abelhas é a característica mais importante na polinização por vibração, o primeiro passo foi avaliar a capacidade vibratória das abelhas *Melipona*, analisando as características físicas das vibrações produzidas por elas (capítulo 2). Aproveitando do fato que abelhas *Melipona* vibram o tórax ao serem presas por uma força feita de um fio de nylon (Hrncir *et al.*, 2008), foi demonstrado que: (1.1) o sistema de força pode ser usado para prever a frequência dominante e a amplitude de velocidade das vibrações que as abelhas geram naturalmente nas flores, mas, no entanto, o sistema de força-flor é o mais adequado; (1.2) as oito espécies de *Melipona* avaliadas, apesar de apresentarem diferenças significativas no tamanho, apresentaram vibrações semelhantes, considerando a frequência principal e a amplitude de velocidade da vibração, ou seja, possuem capacidade vibratória semelhante. Nos experimentos sobre a polinização de beringela por *Melipona fasciculata* (capítulo 3) foi demonstrado que: (2.1) a polinização por *M. fasciculata* aumentou a quantidade e a qualidade dos frutos de beringela produzidos em relação à ausência de polinização e à polinização manual; (2.2) uma única visita de *M. fasciculata* a uma flor de beringela foi suficiente para promover a polinização. Semelhante, na polinização de tomate e beringela por *Bombus impatiens* (capítulo 4), (3.1) apenas uma visita às flores de tomate foi necessária para garantir a produção de tomates com qualidade superior (maior peso e número de sementes) a de flores não visitadas; (3.2) forrageiras maiores de *B. impatiens* (tórax mais pesado) não produziram tomates com qualidade superior; (3.3) as forrageiras de *B. impatiens* são capazes de detectar a quantidade de pólen disponível em uma flor enquanto a visitam, porém, elas não alteram as características físicas da vibração, mas gastam menos tempo em flores com menor quantidade de pólen disponível; (3.4) forrageiras de *B. impatiens* de tamanhos diferentes (peso do tórax) não produzem vibrações com características físicas (frequência e velocidade) diferentes e não retiram quantidades diferentes de pólen das flores de tomate e beringela; (3.5) as forrageiras de *B. impatiens* realizaram vibrações com características físicas – frequência e velocidade – diferentes durante a polinização de espécies de plantas distintas (tomate e beringela).

A discussão a seguir considera outras implicações desses resultados tanto para a agricultura como para o estudo do comportamento das abelhas, e compara os resultados obtidos com as diferentes espécies estudadas. Também discute outros experimentos realizados durante o doutorado, que, infelizmente, não atingiram os objetivos inicialmente propostos dessa tese e não foram incluídos nos capítulos anteriores.

Nos trópicos, mais de 1000 espécies de plantas são cultivadas para produzir alimentos, bebidas, fibras, temperos e remédios (ver Heard, 1999). Um terço das plantas cultivadas para alimento e fibras precisa de polinização para frutificar e gerar sementes (Klein *et al.*, 2007). Além disso, aproximadamente metade das espécies de plantas cultivadas e economicamente importantes origina-se de áreas em que as

abelhas *Apis mellifera* não ocorrem naturalmente e metade delas é polinizada por abelhas (Roubik, 1995). Muitas dessas espécies (por volta de 250) podem ser adaptadas à polinização por abelhas sem ferrão, como o coco (*Cocos nucifera*), a manga (*Mangifera indica*), a carambola (*Averrhoa carambola*), o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), o guaraná (*Paullinia cupana*), a melancia (*Citrullus lanatus*), o sisal (*Agave sisalana*), o café (*Coffea arabica*), o morango (*Fragaria x ananassa*), o pepino (*Cucumis sativus*), entre muitas outras. Abelhas sem-ferrão do gênero *Melipona*, *Trigona*, *Nannotrigona*, *Partamona*, *Scaptotrigona*, *Plebeia* e *Geotrigona* são citadas como visitantes ou polinizadores dessas plantas, no entanto, para a maioria das espécies de plantas falta evidência da sua importância como polinizadores (revisto por Heard, 1999 e Slaa *et al.*, 2006).

As abelhas sem ferrão possuem muitas características que as tornam boas candidatas a polinizadoras de culturas, como por exemplo, a polilectia e a adaptabilidade, a constância floral e o recrutamento de forrageiras. A sua ampla distribuição geográfica permite que possam ser utilizadas nas várias regiões brasileiras. Também apresentam algumas vantagens em relação às abelhas melíferas, pois são menos perigosas aos seres humanos e animais domésticos; e a propagação de suas colônias contribui para a preservação da biodiversidade (Heard, 1999). Além disso, as abelhas sem ferrão podem ser polinizadores efetivos em casa de vegetação e assim, podem ser uma alternativa valiosa para a polinização comercial de plantações (Slaa *et al.*, 2000). Entretanto, há um baixo nível de domesticação dessas abelhas e não há um grande número de colônias disponíveis no Brasil, porém, a utilização das abelhas sem ferrão como polinizadores na agricultura poderá promover o desenvolvimento da meliponicultura (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006).

Por muito tempo a família Solanaceae tem sido de grande interesse para pesquisadores, agricultores e consumidores (Mueller *et al.*, 2005). Ela inclui plantas de interesse agrícola, como a batata (*Solanum tuberosum*), o tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), a beringela (*Solanum melongena* L), as pimentas e os pimentões, e plantas medicinais (exemplo: tabaco) (Knapp, 2002). O tomate é a segunda hortaliça mais produzida mundialmente em área cultivada (Camargo Filho *et al.*, 1994). O Brasil é o principal produtor de tomate da América do Sul. Em 2000, o Cerrado (GO e MG) tornou-se a mais importante zona de produção de tomate industrial no país, com 77% da área plantada, seguido por São Paulo (14%) e pelo Nordeste (9%). No início da década de 90, o Nordeste detinha a maior área de produção (46%) (Melo & Vilela, 2004). Em 2000, o faturamento do mercado brasileiro de derivados de tomate foi de US\$ 500 milhões (Agriannual in Melo & Vilela, 2004). Em 2006, a produção de tomates (estaqueado e rasteiro) foi de mais de um milhão de toneladas (IBGE, 2006). A cadeia agroindustrial do tomate é umas das mais importantes do agronegócio, movimentando também indústrias paralelas de insumos, embalagens, máquinas agrícolas e equipamentos de irrigação, além disso, o tomate para processamento é a principal fonte de renda para um grande número de produtores (Melo & Vilela, 2004).

O aumento da produção dessa cultura agrícola durante as décadas de 70 e 90 foi atribuído ao aumento de produtividade causada pela introdução de tomate

rasteiro para uso industrial e de melhores variedades para o tomate envarado, e não a um aumento na área cultivada (Camargo Filho *et al.*, 1994). Assim, o aumento potencial que a polinização por abelhas pode trazer na produção de tomates merece atenção.

Os trabalhos prévios existentes com abelhas sem ferrão na polinização de Solanaceae também nos levaram a pensar nesse estudo. A avaliação do desempenho de *Nannotrigona perilampoides* para a polinização de tomates em estufas, no México, realizado por Cauich e colaboradores (2004), mostrou que essas abelhas são uma alternativa para a polinização dessa planta, podendo ser utilizada ao invés das espécies de *Bombus*. Esse resultado levantou a questão do mecanismo de polinização por essa espécie de abelha, visto que somente *Melipona* foi observada realizando polinização por vibração até hoje (Buchmann, 1985).

O trabalho de Del Sarto e colaboradores (2005), que avaliou o desempenho de *Melipona quadrifasciata* como polinizador de tomate em estufa e concluiu que, apesar da aparente baixa eficiência dessa espécie nessa situação, é possível utilizá-la em estufa, também instigou o presente estudo, já que não houve perda da qualidade dos frutos produzidos.

Devido a estes resultados por Cauich e colaboradores (2004) e Del Sarto e colaboradores (2005), inicialmente realizamos experimentos com *Nannotrigona testaceicornis* e *M. quadrifasciata* já que um dos objetivos era avaliar a vibração dessas abelhas durante a visita às flores. Os experimentos ocorreram em dois locais: em uma casa de vegetação comercial (empresa Cultivar, Ribeirão Preto) e em casas de vegetação (construídas sob a responsabilidade da Profa. Dra. Luci Rolandi Bego) localizadas na FFCLRP. Nenhuma colônia de *N. testaceicornis* visitou as flores de tomate em nenhuma das estufas (empresa Cultivar: duas estufas; FFCLRP: uma estufa) em um intervalo de 45 dias. A colônia de *M. quadrifasciata* introduzida na casa de vegetação da FFCLRP também não visitou as plantas no intervalo de tempo citado, já na estufa da empresa Cultivar, das quatro colônias introduzidas (duas simultaneamente com o intervalo de um mês entre as introduções), apenas uma das colônias forrageou, sendo que o início das visitas às flores se iniciou somente após 20 dias da introdução. Entretanto, devido à baixa atividade de forrageamento das colônias (tabela 5.1 e 5.2), não conseguimos gravar as vibrações das forrageiras dessa espécie durante as visitas. O equipamento foi montado diversas vezes, porém nenhuma forrageira visitou as flores onde o equipamento estava.

Essas tentativas realizadas e os experimentos realizados na EMBRAPA levantaram considerações importantes em relação ao uso das abelhas sem ferrão na polinização agrícola, visto que durante os experimentos realizados na EMBRAPA, observamos que *M. fasciculata* visitou somente as flores de beringela, mesmo havendo flores de tomate, pimenta e pimentão disponíveis, e o início do forrageamento se deu ao redor de duas semanas após a introdução da colônia na casa de vegetação. Tentativas também foram realizadas com *Melipona marginata* na polinização de tomate no Rio Grande do Sul e depois de duas semanas as abelhas não

começaram a forragear. Dessa maneira, o principal problema enfrentado durante a realização da pesquisa foi a ausência de forrageamento pelas abelhas.

Tabela 5.1. Número de abelhas saindo da colônia de *Melipona quadrifasciata* na casa de vegetação da empresa Cultivar (Ribeirão Preto) em agosto de 2009.

	08:00	09:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00
Observação 1	5	1	11	5	1	0	7	8	0
Observação 2	0	4	5	0	9	2	0	0	0
Observação 3	0	4	1	2	5	0	0	0	0
Observação 4	0	0	0	2	1	0	0	2	0
Observação 5	0	1	2	0	0	0	0	0	0
Observação 6	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Observação 7	0	0	2	0	0	2	1	0	1
Média	1	1	3	1	2	1	1	1	0
Desvio Padrão	2	2	4	2	3	1	3	3	0

Tabela 5.2. Número de abelhas entrando na colônia de *Melipona quadrifasciata* na casa de vegetação da empresa Cultivar (Ribeirão Preto) em agosto de 2009.

	08:00	09:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00
Observação 1	3	2	11	3	1	1	3	3	0
Observação 2	0	5	2	0	5	1	0	1	1
Observação 3	0	3	3	0	1	0	1	0	0
Observação 4	0	0	1	1	1	1	1	1	0
Observação 5	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Observação 6	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Observação 7	0	0	2	1	1	2	1	0	1
Média	0	1	3	1	1	1	1	1	0
Desvio Padrão	1	2	4	1	2	1	1	1	0

Uma das considerações levantadas está relacionada aos fatores envolvidos na atração das abelhas pelas diferentes espécies de plantas. O tomate possui compostos que são repelentes a *Bombus impatiens* e a quantidade desses compostos influencia na frequência de visitas que as flores recebem (Morse, 2009). É possível que esses compostos também sejam repelentes às espécies estudadas aqui, portanto, estudos sobre a atração das abelhas sem ferrão a diferentes culturas podem contribuir na identificação de espécies com potencial para serem utilizadas na polinização agrícola. Além disso, apesar das abelhas sem ferrão se adaptarem ao confinamento (Cauch et al., 2004; Del Sarto et al., 2005; Slaa et al., 2006), é importante verificar se é uma regra geral e se varia com a colônia e as condições do local e manejo durante o período de confinamento. Para *M. quadrifasciata*, por exemplo, o efeito do

confinamento mostrou-se dependente da colônia, algumas colônias desenvolveram-se enquanto outras enfraqueceram, porém, a maioria das colônias apresentou capacidade de adaptação a grandes períodos de confinamento (Del Sarto *et al.*, 2005). Em *N. perilampoides*, embora a população das colônias utilizadas tenha declinado ao longo do experimento, elas sobreviveram até o final do estudo (quase 60 dias), conseguindo se aclimatar às condições da casa de vegetação (Cauich *et al.*, 2004).

No segundo semestre de 2009, com a construção de uma nova casa de vegetação na FFCLRP, iniciamos os experimentos com *M. fasciculata*, espécie com a qual já havíamos obtido sucesso em gravar as vibrações durante as visitas às flores de beringela (capítulo 1).

A beringela é produzida principalmente no Sudeste, sendo que o maior Estado produtor é São Paulo. Sua produção perfaz somente cerca de 1,3% do total da produção no Brasil e 3,2% no estado de São Paulo em relação ao total da produção de hortícolas, no entanto, seu consumo tem crescido e, como é um produto produzido por pequenos produtores, se torna importante para esse setor (Anfalos *et al.*, 2008). Em 2006, a produção brasileira de beringela foi de 78 mil toneladas (IBGE, 2006). Assim, considerando os motivos acadêmicos e agrícolas, decidimos realizar os experimentos com beringela.

Ao estudar o comportamento de *M. fasciculata* durante as visitas às flores de beringela de estilete longo e curto (capítulo 2), verificamos que, apesar de não haver diferenças em relação à duração da visita, ao tempo em que a abelha permaneceu pousada na flor e ao número de *buzzes*, as abelhas realizaram vibrações com frequência principal e amplitude de velocidade diferentes nesses dois tipos de flor. Essas flores possuíam a mesma quantidade de pólen, mas as abelhas retiraram maior quantidade de pólen das flores de estilete longo. No entanto, não encontramos diferença na frequência principal e amplitude de velocidade das vibrações realizadas pelas forrageiras quando comparamos a primeira visita às visitas subseqüentes em flores de estilete longo de beringela (capítulo 1). Como as forrageiras retiram em média 64,4% do pólen de flores desse tipo na primeira visita, é esperado que retirassem uma menor quantidade de pólen nas visitas subseqüentes. Assim, se a menor quantidade de pólen removido fosse a principal causa determinando a frequência e a velocidade da vibração realizada, era esperado que a vibração na primeira visita fosse diferente da vibração realizada nas visitas subseqüentes.

As forrageiras de *B. impatiens* também não realizaram vibrações com frequência e velocidade diferentes na primeira e na quarta visita às flores de tomate, embora a quantidade de pólen retirada da flor tenha sido menor na quarta visita. A estratégia das forrageiras foi gastar menos tempo em flores já visitadas anteriormente. No entanto, a vibração de *B. impatiens* diferiu quando visitavam flores de tomate e beringela em relação à amplitude de velocidade. As flores de tomate contêm menor quantidade de pólen que as flores de beringela e, além disso, as forrageiras retiram uma maior porcentagem de pólen das anteras da última (capítulo 3).

Como os resultados das observações comportamentais mostram que a quantidade de pólen não influencia as características físicas das vibrações (frequência e velocidade) realizadas pelas forrageiras em flores em visitas seguidas, outras características das flores, como a quantidade de pollenkit e a umidade das anteras e o tamanho da flor (King, 1993), provavelmente estão envolvidas na diferença encontrada na vibração realizada pelas forrageiras de *M. fasciculata* em flores de estilete longo e curto de beringela, e pelas forrageiras de *B. impatiens* em flores de tomate e beringela. Essas características podem ser responsáveis pela variação da frequência natural das anteras nas diferentes espécies de plantas e essa frequência natural provavelmente determina a vibração necessária para que haja a expulsão do pólen da antera (Corbet *et al.*, 1988; King, 1993; King & Buchmann, 1996). Entretanto, não analisamos tais características das flores.

Comparamos o peso do tórax das forrageiras de *M. fasciculata* com a de *B. impatiens* e a porcentagem de pólen que retiram durante a primeira visita às flores de beringela de estilete longo. Não encontramos diferença estatisticamente significativa entre o peso do tórax das forrageiras de *M. fasciculata* e de *B. impatiens*, no entanto, *B. impatiens* apresentou maior variação (Mann-Whitney, $p > 0,05$; figura 5.1).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre a quantidade de pólen presente nas anteras das flores de beringela utilizadas nos experimentos no Brasil e no Canadá (Mann-Whitney, $p > 0,05$; figura 5.2). Também não houve diferença estatisticamente significativa entre a quantidade de pólen restante nas anteras de beringela após uma visita de *M. fasciculata* e *B. impatiens* (Mann-Whitney, $p > 0,05$; figura 5.3). *M. fasciculata* retirou, em média, 64,4% do pólen das flores em uma visita enquanto *B. impatiens* 67,1%.

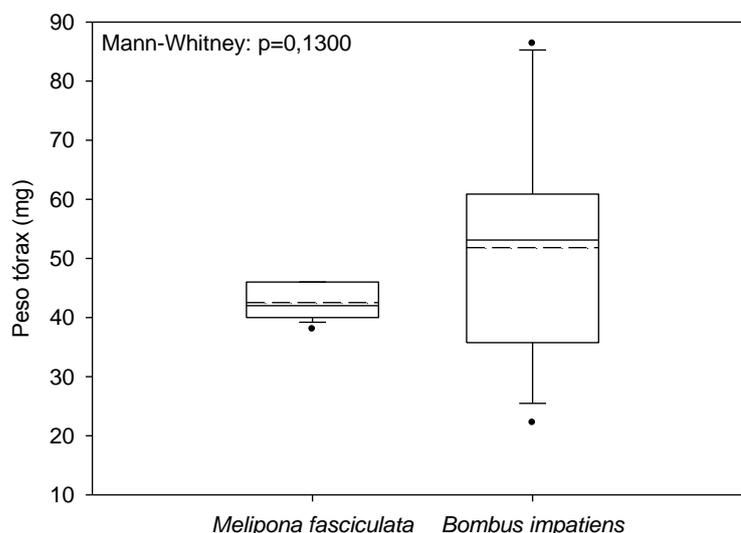


Figura 5.1. Comparação entre o peso médio do tórax das forrageiras de *Melipona fasciculata* (Mf) e de *Bombus impatiens* (Bi). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

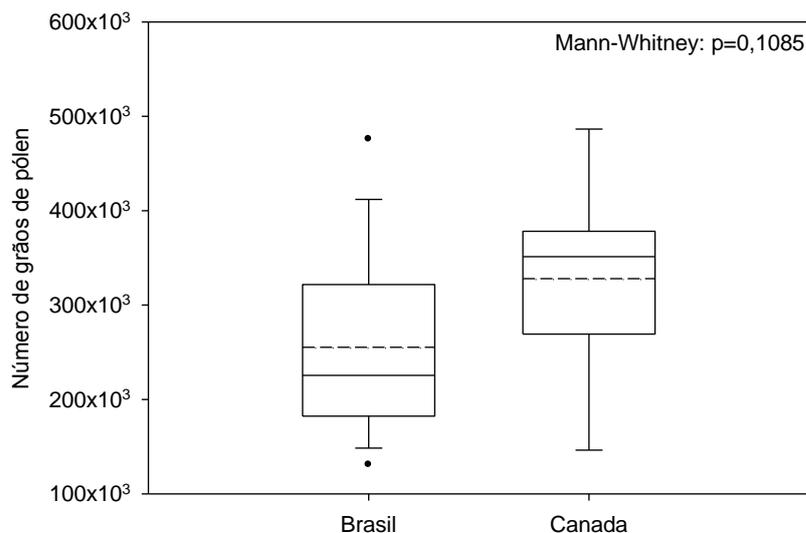


Figura 5.2. Comparação entre a quantidade de pólen presente nas anteras das flores de beringela utilizadas nos experimentos no Brasil e no Canadá. Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

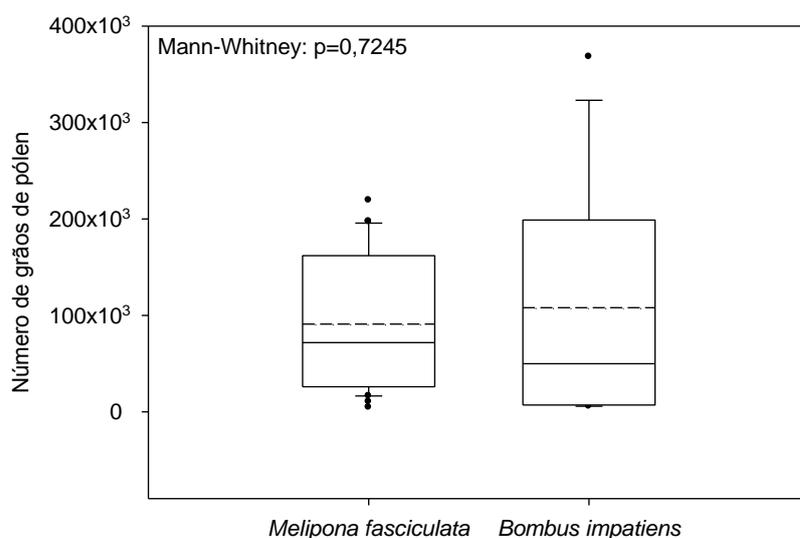


Figura 5.3. Comparação entre a quantidade de pólen restante nas anteras de beringela após uma visita de *Melipona fasciculata* (Mf) e *Bombus impatiens* (Bi). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

Em maio de 2011, gravamos a vibração de *Bombus terrestris* durante a polinização de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill, Solanaceae) em Avignon (França), em uma casa de vegetação comercial. O número amostral foi pequeno ($n=3$), mesmo após diversas tentativas. Dificilmente as forrageiras dessa espécie de abelha

visitaram as flores onde o vibrômetro estava localizado, e só o fizeram quando as flores não foram colocadas no tripé (capítulo 3 – figura 3.7A; capítulo 4 – figura 4.2A). Dessa maneira, utilizamos flores não visitadas anteriormente que estavam nas plantas, sem removê-las.

Comparamos a frequência dominante e a amplitude de velocidade da vibração de *B. terrestris* com a vibração de *M. fasciculata* em beringela e de *B. impatiens* em beringela e tomate, para verificar se *M. fasciculata* é capaz de gerar vibrações com frequência e amplitude de velocidade similares às espécies de *Bombus*, e comprovar seu potencial como polinizadora de tomate, além de beringela.

Houve diferença estatística significativa na frequência dominante realizada pelas diferentes espécies (Kruskal Wallis, $p < 0,0001$; figura 5.4; tabela 5.3), porém apenas a frequência de *M. fasciculata* foi diferente das demais (comparação pelo método de Dunn, $p < 0,05$; figura 5.4; tabela 5.3). Também houve diferença estatística significativa na amplitude de velocidade realizada pelas diferentes espécies (Kruskal Wallis, $p < 0,0001$; figura 5.5; tabela 5.3), porém não encontramos diferenças estatisticamente significativas nessa característica entre a vibração realizada por *M. fasciculata* e *B. impatiens* em beringela e por *B. terrestris* em tomate (comparação pelo método de Dunn, $p > 0,05$; figura 5.5; tabela 5.3), e nem entre a vibração realizada por *B. impatiens* e por *B. terrestris* em tomate (comparação pelo método de Dunn, $p > 0,05$; figura 5.5; tabela 5.3).

Tabela 5.3. Frequência dominante média (FD), mínima (Min) e máxima (Max) e amplitude média de velocidade (V), mínima (Min) e máxima (Max) e seus respectivos desvios padrões (DP) de forrageiras de *Melipona fasciculata*, *Bombus impatiens* e *Bombus terrestris* durante a primeira visita às flores de beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill, Solanaceae).

			Média	Min	Max	DP	N
<i>Melipona fasciculata</i>	Beringela	FD (Hz)	267,5	234,9	288,0	12,2	30
		V (mm/s)	233,6	199,2	270,9	19,5	30
<i>Bombus impatiens</i>	Beringela	FD (Hz)	349,8	319,9	390,6	22,5	16
		V (mm/s)	218,9	180,2	257,6	25,2	16
	Tomate	FD (Hz)	332,8	273,5	361,1	19,4	28
		V (mm/s)	194,7	166,1	244,4	20,5	28
<i>Bombus terrestris</i>	Tomate	FD (Hz)	348,2	311,8	372,5	32,2	3
		V (mm/s)	217,3	170,3	254,7	43,0	3

Alguns trabalhos sugerem que a velocidade e a aceleração (não calculada nesse estudo) são os parâmetros mais importantes na liberação do pólen da antera (Buchmann *et al.*, 1977; King & Buchmann, 1995, 1996). No entanto, Harder & Barclay (1994) sugerem que o mecanismo de liberação do pólen nas anteras poricidas está relacionado à frequência da vibração do visitante. Ao comparar essas duas espécies o único parâmetro analisado que difere é a frequência dominante da

vibração e ainda assim as duas espécies retiram a mesma porcentagem de pólen das anteras das flores de beringela, indicando que a amplitude de velocidade deva ser o parâmetro mais importante na liberação de pólen da antera.

Como *M. fasciculata* e *B. impatiens* não retiraram quantidade diferente de pólen das anteras de beringela e sua vibração só diferiu em relação à frequência dominante da vibração (figura 5.4), concluímos que a amplitude de velocidade provavelmente seja o parâmetro mais importante na liberação de pólen da antera, corroborando os resultados de outros trabalhos (Buchmann *et al.*, 1977; King & Buchmann, 1995, 1996). Assim, considerando essa característica da vibração, *M. fasciculata* produz vibrações que a tornam potencial polinizadora também de tomate, já que é capaz de produzir vibrações com amplitude de velocidade similar às produzidas por *B. terrestris* e maiores que *B. impatiens* nas flores de tomate (figura 5.5).

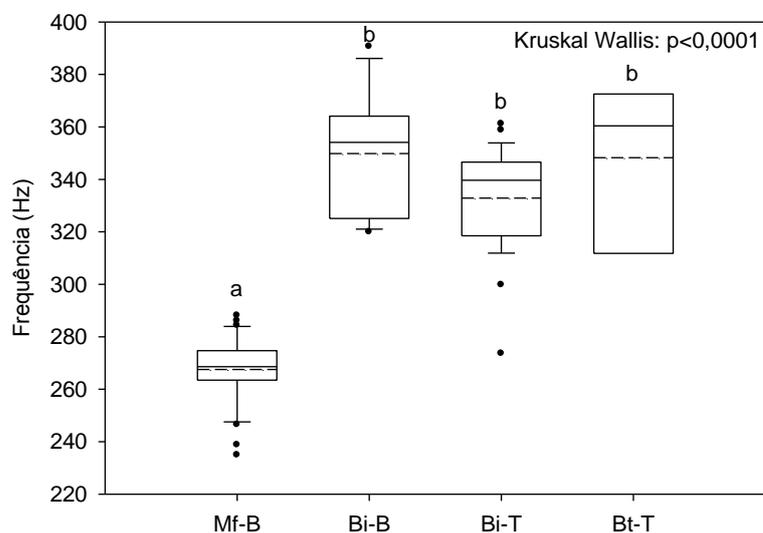


Figura 5.4. Comparação da frequência das vibrações de *Melipona fasciculata* em beringela (Mf-B), *Bombus impatiens* em beringela (Bi-B) e tomate (Bi-T), e *Bombus terrestris* em tomate (Bt-T). Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskall-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

Visto que a vibração é a característica mais importante na polinização por vibração, é fundamental entender as características físicas das vibrações torácicas produzidas pelas abelhas nas flores. *M. seminigra* e *M. melanoventer* produziram vibrações com amplitude de velocidade estatisticamente igual às produzidas por *M. fasciculata* no sistema força (figura 2.4a) e *M. flavolineata*, *M. quadrifasciata*, *M. scutellaris* e *M. melanoventer* no sistema força-flor (figura 2.4b). Dessa forma, essas espécies de abelhas também possuem potencial como polinizadoras de beringela e tomate. Estudos comparativos sobre a produção de sementes e de frutos com o

controle do acesso dos polinizadores às flores fornecem dados importantes para a identificação de espécies polinizadoras chaves (Klein *et al.*, 2007). Um dos primeiros passos para promover a conservação dos polinizadores, é incentivar estudos sobre as relações entre polinizadores e plantas economicamente importantes, o que inclui a análise do papel ecológico e econômico dos polinizadores e informações chave como o efeito da polinização na produção de frutos e sementes (Primack, 1993; Torchio, 1994; Allen-Wardell *et al.*, 1998). Dessa maneira, maiores investigações são necessárias para determinar, tanto as características das vibrações que essas espécies realizam nas flores, quanto sua eficiência. Além disso, é preciso estudar a adaptação dessas espécies às casas de vegetação e sua atração a essas espécies de plantas.

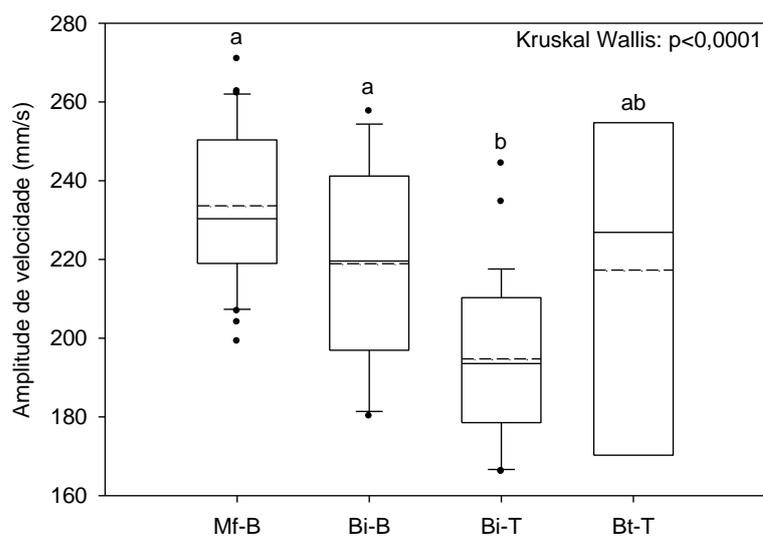


Figura 5.5. Comparação da amplitude de velocidade das vibrações de *Melipona fasciculata* em beringela (Mf-B), *Bombus impatiens* em beringela (Bi-B) e tomate (Bi-T), e *Bombus terrestris* em tomate (Bt-T). Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatísticas a $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, comparação dos pares: método de Dunn). Box plot: caixa indica distribuição de 50% dos valores, linha horizontal cheia indica a mediana, linha horizontal tracejada indica a média, whisker indica o erro padrão (acima 90% e abaixo 10%) e esferas indicam os pontos extremos.

M. fasciculata pode ser utilizada no Brasil com o mesmo sucesso que outras espécies de *Bombus* são utilizadas em outras partes do mundo, se forem desenvolvidas técnicas de produção de colônias em larga escala. Além disso, baseado nas vibrações produzidas em laboratório, outras espécies de *Melipona* apresentam potencial que deve ser investigado. Dessa maneira, não há necessidade de importação de espécies exóticas de *Bombus* para a polinização agrícola.

Referências bibliográficas

- ALLEN-WARDELL G., BERNHARDT P., BURQUEZ A. BUCHMANN S., CANE J., COX P.A., DALTON V., FEINSINGER P., INGRAM M., INOUE D., JONES C.E., KENNEDY K., KEVAN P., KOPOWITZ H, MEDELLIN R., MEDELLIN-MORALES S., NABHAN G.P., PAVLIK B., TEPEDINO V., TORCHIO P. & WALKER S. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conservation Biology*, 12: (1):8-17.
- ANEFALOS L.C., MOREIRA S.R., CIPOLLI K.M.V.A.B., TURCO P.H.N. & TAVARES P.E.R. 2008. Sazonalidade da oferta de produtos hortícolas: o mercado de beringela. In: XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Rio Branco. Buchmann, S.L. 1985. Bees use vibration to aid pollen collection from non-poricidal flowers. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 58(3): 517-525.
- BUCHMANN S.L., JONES C.E. & COLIN L.J. 1977. Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *Solanum xantii* (Solanaceae) in Southern California. *The Wasmann Journal Biology*, 35:1-25.
- CAMARGO FILHO W.P., DONADELLI A., SUEYOSHI M.L.S. & CAMARGO A.M.M.P. 1994. Evolução da produção de tomate no Brasil. *Agricultura em São Paulo*, 41(1):41-69.
- CAUICH O., QUEZADA-EUÁN J.J.G., MACIAS-MACIAS J.O., REYES-OREGEL V., MEDINA-PERALTA S. & PARRA-TABLA V. 2004. Behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in subtropical México. *Journal of Economic Entomology*, 97(2):172-179.
- CORBET S.A., CHAPMAN H. & SAVILLE N. 1988. Vibratory collection and flower form: bumble-bees on *Actinidia*, *Symphytum*, *Borago* and *Polygonatum*. *Functional Ecology*, 2:147-155.
- CORTOPASSI-LAURINO M., IMPERATRIZ-FONSECA V.L., ROUBIK D.W., DOLLIN A., HEARD T., AGUILAR I., VENTURIERI G.C., EARDLEY C. & NOGUEIRA-NETO P. 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie*, 37:275-292.
- DEL SARTO M.C.L., PERUQUETTI R.C. & CAMPOS L.A.O. 2005. Evaluation of the neotropical bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 98(2):260-266.
- HARDER L.D. & BARCLAY R.M.R. 1994. The functional significance of poricidal anthers and buzz pollination: controlled pollen removal from *Dodecatheon*. *Functional Ecology*, 8(4):509-517.
- HEARD T.A. 1999. The role of stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology*, 44:183-206.
- HRNCIR M., GRAVEL A.I., SCHORKOPF D.L.P., SCHMIDT V.M., ZUCCHI R. & BARTH F.G. 2008. Thoracic vibrations in stingless bees (*Melipona seminigra*): resonances of the

thorax influence vibrations associated with flight but not those associated with sound production. *Journal of Experimental Biology*, 211:678-685.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2006. Censo agropecuário. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em 18 jun.

KING M.J. 1993. Buzz foraging mechanism in bumble bees. *Journal of Apicultural Research*, 32(1):41-49.

KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1995. Bumble bee-initiated vibration release mechanism of *Rhododendron* pollen. *American Journal of Botany*, 82(11):1407-1411.

KING M.J. & BUCHMANN S.L. 1996. Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology*, 10:449-456.

KING M.J. & LENGOC L. 1993. Vibratory pollen collection dynamics. *Transactions of the ASAE*, 36(1):135-140.

KLEIN A.M., VAISSIÈRE B.E., CANE J.H., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A., KREMER C. & TSCHARNTKE T. 2007. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274(1608):303-313.

KNAPP S. 2002. Tobacco to tomatoes: a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. *Journal of Experimental Botany*, 53(377):2001-2022.

MELO P.C.T. & VILELA N.J. 2004. Desempenho da cadeia agroindustrial brasileira do tomate na década de 90. *Horticultura Brasileira*, 22(1):154-160.

MORSE A. 2009. Floral scent and pollination of greenhouse tomatoes. Universidade de Guelph, Guelph, Dissertação de Mestrado, 130p.

MUELLER L.A., SOLOW T.H., TAYLOR N., SKWARECKI B., BUELS R., BINNS J., LIN C., WRIGHT M.H., AHRENS R., WANG Y., HERBST E.V., KEYDER E.R., MENDA N., ZAMIR D. & TANKSLEY S.D. 2005. The SOL Genomics Network. A Comparative Resource for Solanaceae Biology and Beyond. *Plant Physiology*, 138:1310-1317.

PRIMACK R.B. 1993. *Essentials of conservation biology*. 1 ed. Massachusetts, Sinauer Associates Inc., 564p.

ROUBIK D.W. 1989. *Ecology and natural history of tropical bees*. New York, Cambridge University Press, 514p.

SLAA E.J., SANCHEZ L.A., SANDI M. & SALAZAR W. 2000. A scientific note on the use of stingless bees for commercial pollination in enclosures. *Apidologie*, 31:141-142.

SLAA E.J., SANCHEZ L.A., MALAGODI-BRAGA K.S. & HOFSTEDE F.E. 2006. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37:293-315.

TORCHIO P.F. 1994. The present status and future prospects of non social bees as crop pollinators. *Bee World*, 75: 49-53.