

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**O USO DE ABELHAS SEM FERRÃO PARA A POLINIZAÇÃO DE  
TOMATEIRO (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.) EM SISTEMAS DE  
CULTIVO ORGÂNICO PROTEGIDOS: FATORES AMBIENTAIS,  
PRODUTIVIDADE E VALORAÇÃO ECONÔMICA**

**Davi de Lacerda Ramos**

Brasília - DF

2022

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**O USO DE ABELHAS SEM FERRÃO PARA A POLINIZAÇÃO DE  
TOMATEIRO (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.) EM SISTEMAS DE  
CULTIVO ORGÂNICO PROTEGIDOS: FATORES AMBIENTAIS,  
PRODUTIVIDADE E VALORAÇÃO ECONÔMICA**

**Davi de Lacerda Ramos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Mercedes Maria C. Bustamante (UnB)

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Carmen S. Soares Pires (Embrapa)

Brasília - DF

2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

Tese de Doutorado

**DAVI DE LACERDA RAMOS**

Título:

**O uso de abelhas sem ferrão para a polinização de tomateiro (*Lycopersicon  
esculentum* mill.) em sistemas de cultivo orgânico protegidos: fatores ambientais,  
produtividade e valoração econômica**

**Banca examinadora:**

*Dra. Mercedes M.C. Bustamante*

*Presidente*

*ECL/ UNB*

*Dr. Pedro Togni*

*Membro interno*

*ECL/ UNB*

*Dr. Felipe Contrera*

*Membro externo*

*ICB/ UFPA*

*Dra. Blandina Viana*

*Membro externo*

*IBio/UFBA*

*Dra. Marina Frizzas*

*Membro suplente*

*ECL/ UNB*

Brasília, 29 de outubro de 2022

## AGRADECIMENTOS

Sou grato primeiramente a Deus por todos os benefícios que me concedeu durante os últimos quatro anos, e em especial, por me ter feito chegar até esta etapa final do doutorado. À Ele toda honra e glória. Agradeço a minha família, em especial meus pais e minha namorada Daniela, que sempre estiveram presentes me apoiando e orientando para que eu conseguisse concluir esta etapa. Aos amigos e irmãos em Cristo, que sempre me ajudaram em oração.

Agradeço grandemente a Prof. Dra. Mercedes Bustamante por ter aceitado me orientar e pelos conselhos, sempre tão pertinentes e agregadores. À minha co-orientadora Carmen Pires, pela presença constante, pelo voto de confiança no meu trabalho, por todo conhecimento transmitido, e sobretudo, pela paciência ao longo deste período.

Aos colegas da Universidade de Brasília, do laboratório de ecossistemas, e do Laboratório de Ecologia e Biossegurança da Embrapa Cenargen que fizeram parte desta trajetória e que me auxiliaram em diversos momentos para que eu conseguisse concluir esta etapa. Aqui destaco alguns destes:

Aos colegas Lucas Borges, Raissa Costa, Michelle Cogitskei, Daniel Daldegan, João Marcos, Ariane Rodrigues, Victória Medeiros, Enéas Rocha, Henrique Cardoso, Darah Duarte, Antônio Gabriel, Rafaela Arruda, Rafaela Pontes, Helena Alencar, Luana Dantas, Tiago Maia, João Vítor, Juliana França e Beatriz Silva pelo companheirismo e disposição nas saídas campo e nos trabalhos braçais de laboratório para triagem do material coletado, bem como dos registros de vídeo e fotos feitos em cada trabalho. A dedicação de vocês foi essencial para o sucesso dos nossos experimentos.

À Dra. Eliana Fontes, que foi como uma “segunda mãe” para mim, agradeço pelas orientações na realização das atividades de laboratório e pelos conselhos práticos da vida acadêmica e pelo auxílio na tradução para o inglês de um dos capítulos da tese.

Ao professor e amigo Theo Mota, o qual tive a oportunidade de conhecer ao longo do doutorado, que sempre se mostrou aberto e disponível a me ajudar, com as análises, os conselhos, me fazendo entender e me aprofundar mais na área da fisiologia sensorial, e ecologia da visão das abelhas.

Ao colega Felipe Deodato, por todo o auxílio dado para a realização das análises econômicas do capítulo 4.

Aos professores Edson Sujji, Raul Laumman, Murilo Dias, Felipe Gawriszewski e Guarino Coli, pela disponibilidade em me auxiliar nas análises estatísticas.

Aos professores Dr. Pedro Togni, Dra. Blandina Viana, Dr. Felipe Contrera e Dra. Marina Frizzas, que aceitaram fazer parte da minha banca para contribuir com o trabalho.

Ao Joe e Clevane, por abrirem as portas da Fazenda Malunga para a realização dos experimentos em estufas, bem como ao Lourival, Thomaz, Fábio, e demais funcionários da fazenda que me deram todo o suporte necessário durante o período de trabalho de campo.

Aos pesquisadores Felipe Amorin, Cristiano Menezes e o colega Pedro Augusto, pela parceria no projeto no qual está inserida a tese e pela ajuda na análise de parte dos dados.

Aos pesquisadores Raul Laumman e Carolina Moraes e Michely de Aquino pelo auxílio e orientação nos experimentos envolvendo voláteis florais.

Ao amigo Pedro Henrique, pelo auxílio nas ferramentas de design e edição de algumas figuras do trabalho.

Às amigas, Márcia Cristina e Bárbara Olinda, pelo auxílio nas correções do português e revisão da formatação e referências.

Enfim, esta tese é resultado de uma grande rede de colaboração. Sou grato a todos os que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e que estiveram comigo ao longo destes quatro anos: Muito obrigado!!!

## RESUMO

O Brasil é um país megadiverso que provê uma série de serviços essenciais para o bem-estar humano. As abelhas sem ferrão constituem um grupo de mais de 500 espécies caracterizadas por serem polinizadores efetivos de diversas plantas cultivadas, tendo importante papel para a produção de alimentos no país. Apesar disso, pouco ainda se sabe sobre a ecologia e o manejo destas abelhas como polinizadoras em ambientes protegidos. Entre os principais limitantes para o desenvolvimento de estratégias de manejo envolvendo o uso destas abelhas para a polinização nestes sistemas, destaca-se a dificuldade de aclimação frente às condições ambientais, seja por condições de temperatura ou luminosidade dentro das estufas. Esta tese tem como objetivo principal avaliar a ecologia e manejo de espécies de abelhas sem ferrão para a polinização em sistemas protegidos de cultivo orgânico do tomate (*Lycopersicon esculentum*). Como objetivos específicos, foi avaliado como condições ambientais de confinamento comuns em sistemas protegidos (redução da radiação ultravioleta e/ou verde e aumento da temperatura), em condições experimentais, afetam a resposta fototática (capítulo 1) e a atividade de voo e forrageamento de três espécies de abelhas sem ferrão: *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier (1836)), *Scaptotrigona* cf. *postica* Letreille (1807) e *Frieseomelitta varia* Lepeletier (1836) (capítulo 2). Investigou-se ainda, em estufa agrícola, se a visitação pela abelha *M. quadrifasciata* difere entre flores de duas cultivares de tomateiro com atributos florais distintos (capítulo 3) e como o provimento do serviço ecossistêmico de polinização por esta abelha pode ser mais efetivo e rentável para a produtividade agrícola e qualidade do tomate produzido quando comparado ao método de polinização por soprador (capítulo 4). A planta modelo do estudo é o tomateiro que se destaca como uma das hortaliças mais cultivadas no mundo e a principal espécie olerícola de importância econômica no Brasil, com ampla utilização em casas de vegetação sob sistema de produção orgânico. Embora seja uma espécie autógama, sua produção é beneficiada pela polinização por abelhas. Este trabalho evidencia que a luz ultravioleta parece ser um componente importante para a resposta fototática, a aclimação, a atividade de voo e forrageamento das abelhas. Contudo, seu efeito diferiu entre as espécies de abelhas sem ferrão avaliadas. Da mesma forma, a temperatura elevada foi um fator limitante para a atividade das espécies avaliadas. Experimentos em estufa mostraram que a abelha *M. quadrifasciata* visitou com maior frequência as flores da cultivar Italiano

quando comparado a cultivar Cereja. Tal preferência provavelmente seja explicada por diferenças encontradas em atributos florais entre cultivares. De forma geral, os experimentos de ensacamentos feitos em estufa mostraram que a combinação da polinização pela espécie *M. quadrifasciata* com o soprador contribuiu mais para o aumento da produtividade e qualidade dos frutos do tomateiro. Este efeito, porém, variou de acordo com a cultivar avaliada e o período de amostragem. Para a cultivar Italiano, houve maior importância da polinização pela abelha, enquanto que para a cultivar Cereja, tal importância foi atribuída ao soprador. As medidas econômicas mostraram que a combinação de agentes polinizadores gerou maior incremento do valor de produção e o lucro obtido a partir da produtividade para ambas cultivares em estufa. Em situações de maior incidência de pragas, recomenda-se apenas o uso da polinização pela abelha *M. quadrifasciata*. Tais resultados reforçam o potencial uso e manejo destas abelhas em estufas como importante ferramenta para a melhoria da produção agrícola, e destacam a importância do conhecimento da biologia e comportamento delas, frente a condições ambientais limitantes. Por meio deste estudo, são fornecidas informações importantes sobre temas ligados à biologia da polinização, como aspectos comportamentais de abelhas nativas sem ferrão, ecologia cognitiva de abelhas, manejo de abelhas para a polinização agrícola, além de gerar dados de interesse para os produtores de sistemas de produção orgânica em ambientes protegidos, como o quanto a polinização por abelhas sem ferrão incrementa na produção e no valor econômico associado nestes sistemas.

**Palavras-chave:** Meliponíneos. Interações animal-planta. Radiação UV. Valoração de serviços ecossistêmicos. Atributos florais.

## ABSTRACT

Brazil is a megadiverse country and its impressive biodiversity provides a number of essential services for human well-being. Stingless bees are a group of more than 500 species characterized as effective pollinators of various cultivated plants, playing an important role in food production in the country. Despite this, little is known about the ecology and management of these bees as pollinators in protected environments (greenhouses). Among the main limiting factors for the development of management strategies involving the use of these bees for pollination in these systems, the difficulty of acclimatization to environmental conditions, either by temperature or light conditions inside the greenhouses stands out. The main objective of this thesis is to evaluate the ecology and management of stingless bee species for pollination in protected systems of organic tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivation. As specific objectives, we evaluated how common confinement environmental conditions in protected systems (reduced ultraviolet and/or green radiation and increased temperature), under experimental conditions, affect the phototactic response (Chapter 1) and the flight and foraging activity of three stingless bee species: *Melipona quadrifasciata* (Lepelletier (1836), *Scaptotrigona* cf. *postica* Letreille (1807) and *Frieseomelitta varia* Lepelletier (1836) (Chapter 2). We also investigated, in an agricultural greenhouse, whether the visitation by *M. quadrifasciata* differs between flowers of two tomato cultivars with distinct floral attributes (Chapter 3) and how the provision of the ecosystem service of pollination by this bee can be more effective and cost-effective for agricultural productivity and tomato quality when compared with pollination method with the blower (Chapter 4). The model plant of the study is the tomato, which stands out as one of the most cultivated vegetables in the world and the main vegetable species of economic importance in Brazil, with wide use in greenhouses under organic production system. Although it is an autogamous species, its production benefits from pollination by bees. This work evidences that ultraviolet light seems to be an important component for the phototactic response, acclimation, flight activity and foraging of bees. However, its effect differed among the stingless bee species evaluated. Similarly, high temperature was a limiting factor for the activity of the species evaluated. Experiments in the greenhouse showed that *M. quadrifasciata* visited flowers of the Italian cultivar more frequently when compared to the Cereja cultivar. This preference is probably explained by differences found in floral attributes between cultivars. In general, the greenhouse bagging



experiments showed that the combination of pollination by *M. quadrifasciata* with the blower contributed more to the increase in yield and fruit quality of tomato plants. This effect, however, varied according to the cultivar evaluated and the sampling period. For the Italian cultivar, bee pollination was more important, while for the Cherry cultivar, this was attributed to the blower. The economic measures showed that the combination of pollinating agents generated a greater increase in the production value and the profit obtained from productivity for both cultivars in greenhouse. In situations of higher pest incidence, only the use of pollination by the *M. quadrifasciata* bee is recommended. These results reinforce the potential use and management of these bees in greenhouses as an important tool to improve agricultural production, and highlight the importance of knowledge of their biology and behavior under limiting environmental conditions. Through this study, important information is provided on topics related to pollination biology, such as behavioral aspects of native stingless bees, cognitive ecology of bees, bee management for agricultural pollination, besides generating data of interest to producers of organic production systems in protected environments, such as how much stingless bee pollination increases production and the associated economic value in these systems.

**Key words:** Meliponines. Animal-plant interactions. UV radiation. Valuation of ecosystem services. Floral traits.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

Fig. 1. Schematic of the Y-maze (A) and image of the mazes (B) used in a dual-choice experiment with the stingless bee species *Scaptotrigona cf. postica*, *Frieseomelitta varia*, and *Melipona quadrifasciata*. Description of the mazes are as follows: Except for the ends of the arms, the entire interior of the completely closed wooden box is painted with black; Y-shaped body with an opening for the release of bees; Y arms with open ends where the combination of materials to be evaluated were installed in each experiment. These materials included 4 mm transparent glass, glass covered with film, and plastic film that filtered different percentages of UV light. Source: Adapted from Morandin and co-workers (2002).....52

Fig. 2. Spectral properties of the three materials tested in the dual-choice bioassays (Y-mazes) with the stingless bee species: *Scaptotrigona cf. postica*, *Frieseomelitta varia*, and *Melipona quadrifasciata*. The following treatments were evaluated: 4 mm clear glass (UV+/G+ = control; red line); 4 mm clear glass with UV-blocker film (UV-/G+; black line); and commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue (UV-/G-; blue line). (A) Relative transmittance (%) and (B) Relative irradiance (%) of light between 300 and 650 nm of sunlight filtered by each treatment. The dashed line indicates the transmittance (A) or relative irradiance (B) values at 365 nm, the approximate wavelength of the UV light absorption peak measured in the short-wavelength photoreceptors of meliponines (Peitsch *et al.* 1992).....53

Fig. 3. Average temperature values recorded in the morning hours (07:20–11:00 am) by a thermo-hygrometer (HOBO Pro v2 Temp./RH, Sigma Sensors, Brazil) installed outdoors (light ball) at the ends of the arms of the mazes with 4 mm transparent glass. These were installed for the following treatments: UV+/G+ (yellow ball); commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue, UV-/G- (blue ball); and clear glass with UV-blocking film, UV-/G+ (grey ball). The error bars are proportional to the standard deviation (SD).....57

Fig. 4. The proportion of choices made by the three stingless bee species during behavioural assays in Y-shaped dual-choice mazes experiments: transparent glass (control: UV+/G+) vs. commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue (UV-/G-); glass vs. glass with UV-blocker film (UV-/G+); and glass with UV-blocking film vs. commercial plastic film. Before each round of bioassays, calibration of the mazes with the transparent glass (control vs. control) pairing was performed. A chi-square ( $\chi^2$ ) test was conducted to determine whether the proportion of bee choice was different from chance. Refer to the material and methods section for additional information. \*\*\*  $p < 0.001$ .....59

Fig. 5. Choice latency, in seconds, made by three stingless bee species during behavioural assays in Y-shaped dual-choice mazes: transparent glass (control: UV+/G+) vs. glass with UV-blocking film (UV-/G+); transparent glass vs. commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue (UV-/G-); and glass with UV-blocker film vs. commercial plastic film. A t-test or the Mann–Whitney test (W) (one-tailed to UV+/G+ vs. UV-/G- UV+/G+ vs. UV-/G+ experiments and two tailed to UV-/G+ vs. UV-/G- experiment) was applied to assess whether the mean bee latency choice varied between different paired treatments. The points represent mean values and error bars, confidence interval. \*  $p < 0.05$ .....60

Fig. 6. Proportion (A and B) and choice latency (C and D) recorded during behavioural assays conducted in Y-shaped double-choice mazes with the stingless bee species *Frieseomelitta varia* in the periods 9:00-10:00 am (A and C) and 10:00-11:00 am (B and D). The following treatments were evaluated: transparent glass (control: UV+/G+); glass with UV-blocking film (UV-/G+); and commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue (UV-/G-). Temperature ranges inside the mazes at 09:00-10:00 am and 10:00-11:00 am were between 31–42.5°C and 36–49°C, respectively. Before each round of behavioural assays, calibration of the glass (control vs. control pairing) maze was performed. A chi-square ( $\chi^2$ ) test was conducted to determine whether the proportion of bee choice was different from chance. A t-test or the Mann–Whitney test (W) (one-tailed to UV+/G+ vs. UV-/G- UV+/G+ vs. UV-/G+ experiments and two tailed to UV-/G+ vs. UV-/G- experiment) was applied to assess whether the mean bee latency choice varied

between different paired treatments. Refer to the material and methods section for additional information. The points represent mean values and error bars, confidence interval. \*  $p < 0.05$ .....62

## CAPÍTULO 2

Fig. 1. Estimates of temperature (A, C and E) and irradiance in the UV range (365 nm) (B, D and F) measured inside 5.3 cubic meter experimental arenas made of wood and different covering materials at different times of the day. The treatments were: G1: UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena with hot air conditioning (red line); G2: UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with cold air conditioning (green line); G3: UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with hot air conditioning (blue line); G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with cold air conditioning (purple line). Data from *Scaptotrigona cf. postica* were obtained between 07:00 -11:00 am; *Melipona quadrifasciata* between 06:00-10:00 am; and *Frieseomelitta varia* between 10:00 am – 14:00 pm. Model estimates are based on the models described in Table S2. Shades around the lines represent the confidence interval.....96

Fig. 2 - Average number of exists (A and B) and entries (C) from the hive; dead individuals (D) and visits to the visits to resource sources (E) for the species *Melipona quadrifasciata* as a function of the days of confinement or observation times. The treatments were: G1: UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena with hot air conditioning (red line); G2: UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with cold air conditioning (green line); G3: UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with hot air conditioning (blue line); G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with cold air conditioning (purple line). The model estimates are based on the models described in table S3. Shades around the lines represent the confidence interval. The graphs included represent the response variable that had a significant effect (more details in table S3).....97

Fig. 3 - Average number of exits (A) and entries (B) from the hive and visits to resource sources (C) for the species *Frieseomelitta varia* as a function of days of confinement or

observation times. The treatments were: G1: UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena with hot air conditioning (red line); G2: UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with cold air conditioning (green line); G3:UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with hot air conditioning (blue line); G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with cold air conditioning (purple line). The model estimates are based on the models described in table S3. Shades around the lines represent the confidence interval. The graphs included represent the response variable that had a significant effect (more details in table S3).....98

Fig. 4 - Average number of exits (A) and entries (B) from the hive for the species *Scaptotrigona cf. postica* over the of days of confinement or period of observation. The treatments were: G1: UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena with hot air conditioning (red line); G2: UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with cold air conditioning (green line); G3: UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with hot air conditioning (blue line); G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with cold air conditioning (purple line). The model estimates are based on the models described in table S3. Shades around the lines represent the confidence interval. The graphs included represent the response variable that had a significant effect (more details in table S3).....99

Fig. S1. (A) Schematic representation of the arenas (above), indicating the door for entry into the arena (in red), position of the air conditioning (in green) and hole for connecting the hives by 15 cm diameter wooden tubes (in blue) (extracted from Ramos, DL. *et al.*, 2022, data under publication). (B) Image of the experimental arenas (below) installed in the experimental area located at Embrapa Genetic Resources and Biotechnology. The four arenas were made of iron, demountable and covered with different covering materials on the ceiling and front wall. The nests of the three stingless bee species evaluated were placed externally on a support and the entrance of the hives was connected to the interior of the arenas through a 15 cm long wooden tube, as represented in letter C.....103

Fig. S2 – Relative Reflectance (%) spectrum of artificial and tomato flowers. The artificial flowers were made of EVA (rubberized polymer Ethylene Vinyl Acetate) in yellow and green, to simulate the sepals and petals of tomato flowers. To evaluate reflectance, three

measurements of each EVA (i.e. yellow and green) and of flower petals were taken from distinct flowers. The measurements were made using a bifurcated fiber optic probe (R-400-7-UV-VIS, Ocean Optics), connected to a spectrophotometer (USB2000 +UV-VIS-ES, Ocean Optics) calibrated between 300 and 700 nm inciding light on a vessel with diffuse white standard (BaSO<sub>4</sub>). Measurements were made by positioning the probe very close to the structure of interest, at an angle of 90° to the surface being measured. The readings of the reflectance curve between 300 - 650 nanometers (nm) of tomato flower petals (yellow line), leafs (black line) and yellow (moss green line) and green (dark green line) EVAs were made in the Ocean View 1.6.7 program. Illumination in the UV-VIS range was provided with a pulsed xenon light source (PX-2, 220-750 nm, Ocean Optics).....104

Fig. S3. Artificial flowers used in bioassays with the bees *Melipona quadrifasciata* (a), *Frieseomelitta varia* (b) and *Scaptotrigona cf. postica* (c). These flowers were shaped like a star with about 7cm length from one end to the other and were made of EVA (rubberized polymer Ethylene Vinyl Acetate) in yellow and green, to simulate the sepals and petals. An eppendorf tube containing a 70% solution of water and sugar was placed in the central part of these flowers.....105

### CAPÍTULO 3

Figura 1 – Esquema indicando a distribuição dos canteiros plantados com as cultivares Cereja e Italiano de tomateiro (*Lycopersicum. esculentum*) e distribuição central dos ninhos de abelhas em uma estufa de cerca de 3.212 m<sup>2</sup> de área plantada e 4.332 m<sup>2</sup> de área total (58,80 x 74 m), 5,80 metros de altura de pé direito, e 8,70 metros de altura na parte mais alta. A estufa é coberta no teto com filme plástico de polietileno difusor de luz com 150 micras de espessura da marca GINEGAR com transmitância da luz na faixa do ultravioleta (UV: 365 nm) de 10,24%, e telada nas laterais com uma tela branca com cerca de 0,40 mm de abertura de malha, instalada na Fazenda Malunga, Distrito Federal.....112

Figura 2 – Estruturas da flor de tomateiro, *Lycopersicum. Esculentum*. Antera poricida com marcas de necrose no tecido (circuladas em vermelho) deixadas pela abelha mandaçaia ao visitá-la. Fonte: Daniel Daldegan.....115

Figura 3 – Figura 3 – Visualização de grãos de pólen do tomateiro, *Lycopersicum. esculentum*, em Câmara de Neubauer obtida a partir de câmera acoplada ao microscópio Leica Microsystems. Fonte: Daniel Daldegan.....116

Figura 4 – (A) Ensacamento de inflorescências contendo flores do tomateiro (*Lycopersicum. esculentum*) em bioensaios com forrageiras de *M. quadrifasciata*; (B) Estrutura completa dos experimentos envolvendo o olfatômetro em “Y”; (C) Abelhas forrageiras de *M. quadrifasciata* armazenadas individualmente em potes de plástico após observação em bioensaio; (D) Abelha que se deslocou para um dos lados do olfatômetro em “Y” (indicado pela seta vermelha). Fonte: Daniel Daldegan.....119

Figura 5 – Número médio de visitas por flor (a esquerda) e número médio de marcas deixadas pelas abelhas na flor (a direita) registrado em experimentos de preferência para duas cultivares de tomateiro, *Lycopersicum. esculentum*. Pontos representam valores médios e barras de erro referem-se a erro padrão (EP). “\*\*\*\*” valor de  $p < 0,001$ .....122

Figura 6 – Número de flores por inflorescência (A), número de pétalas (B), sépalas (C), estames (D) por flor, comprimento da corola (E) e tubo (F) e largura do tubo (G) entre cultivares Italiano e Cereja de tomateiro, *Lycopersicum. esculentum*. Pontos representam valores médios e barras de erro referem-se a erro padrão (EP). “\*\*\*\*” valor de  $p < 0,001$ .....123

Figura 7 - Número de grãos de pólen por flor para as cultivares Italiano e Cereja de tomateiro (*Lycopersicum. esculentum*). Pontos representam valores médios e barras de erro referem-se a erro padrão (EP). “\*\*\*\*” valor de  $p < 0,001$ .....124

Figura 8 - (A) Refletância espectral relativa de estruturas florais e folhas de *Lycopersicum Sculentum* nas cultivares Italiano e Cereja ao longo do comprimento de onda

(nanômetros). Curvas referem-se aos espectros de refletância relativa média do tubo poricida (Italiano = linha laranja tracejada; Cereja = linha verde pontilhada), pétalas (Italiano = linha laranja contínua; Cereja = linha verde tracejada), e folhas (Italiano = linha preta; Cereja = linha cinza). (B) Distâncias perceptuais de estruturas florais de *Lycopersicum Sculentum* no modelo de hexágono para himenópteros tricromáticos. Os cantos dos hexágonos representam a excitação (E) da curva de absorção dos três receptores de abelhas para o verde (G), ultravioleta (UV), e azul (B). Os cantos sem indicação de letras referem-se a possíveis combinações entre os receptores (UVB, UVG e BG). O centro da figura representa a refletância do fundo (folhagem = “+” cinza) para as estruturas florais (pétala Italiano = círculo laranja, tubo Italiano = triângulo laranja, pétala Cereja = quadrado verde, tubo Cereja = losângulo verde). A distância entre os pontos indica o quão semelhantes as cores são para as abelhas.....125

Figura 9 - Imagens de flores de *Lycopersicum sculentum* do cultivar Italiano (a esquerda) e Cereja (a direita) registradas com câmera fotográfica Canon EOS Rebel SL2 sem (A) ou com filtro UV (B) da marca Hoya U-360 (UV) IR 52/2mm. As partes claras da flor refletem na faixa do UV. As partes escuras, por outro lado, absorvem nesta faixa de luz. Fonte: Sofia Coradini.....126

Figura 10 – Percentual de flores marcadas (*proxy* de visitação) de duas cultivares de tomateiro com o aumento do número de caixas de abelhas *M. quadrfasciata* em estufa. Linha azul representa a cultivar Cereja enquanto que a linha laranja representa a cultivar Italiano. Linha tracejada indica o percentual de 50% de flores marcadas.....129

## CAPÍTULO 4

Figura 1 – Estufa utilizada no experimento de polinização assistida de tomateiro pela abelha mandaçaia (*Melipona quadrfasciata*). (A) Fileiras contendo tomateiro da cultivar Italiano. (B) Lateral da estufa contendo telado branco. (C) Abelha mandaçaia visitando a flor do tomateiro. (D) Canteiros onde foram aplicados os diferentes tratamentos e identificados com placas de cores diferentes. Fonte: Lucas Borges (Foto C).....143



Figura 2 - Valores médios e erro padrão (EP) dos dados de temperatura (°C) e umidade relativa (%) registrados entre 06:00 horas e 18:00 horas durante experimentos em uma estufa com as seguintes características: área total de 4.332 m<sup>2</sup>, com cerca de 7 metros de altura de pé direito e coberta no teto com filme plástico difusor de luz 150 micras da marca GINEGAR e telado de cerca de 5 metros de altura (malha plástica branca de 50 mesh) nas laterais. (A) valores obtidos entre 30 de agosto a 25 de outubro de 2021 (estação seca) e (B) valores obtidos entre 29 de janeiro e 22 de março de 2022 (estação chuvosa).....151

Figura 3 – Estimativa de produtividade: produtividade (kg/metro linear) (A e E) e produtividade total (kg/área total plantada na estufa) (B e F); valor bruto, em R\$, da renda estimada para cada dado de produtividade (C e G) e valor líquido (lucro), em R\$, da renda estimada / estufa (D e H) para o tomateiro, cultivar Italiano, a partir dos dados obtidos durante experimentos conduzidos em casa de vegetação no Distrito Federal entre 30 de agosto à 25 de outubro de 2021 (estação seca) e entre 29 de janeiro à 22 de março de 2022 (estação chuvosa). Os valores foram estimados a partir dos seguintes tratamentos avaliados: autopolinização espontânea: AE (roxo), polinização por mandaçaia: PM (azul), polinização por mandaçaia e soprador: PMPS (verde) e polinização por soprador: PS (amarelo). Pontos pretos pequenos representam dispersão dos dados, enquanto pontos maiores representam valores médios e barras de erro, percentis. Letras (a,b,c) representam diferenças significativas entre tratamentos.....159

Figura 4 – Estimativa de produtividade: produtividade (kg/metro linear) (A e E) e produtividade total (kg/área total plantada na estufa) (B e F); valor bruto, em R\$, da renda estimada para cada dado de produtividade (C e G) e valor líquido (lucro), em R\$, da renda estimada / área total plantada na estufa (D e H) para o tomateiro, cultivar Cereja, a partir dos dados obtidos durante experimentos conduzidos em casa de vegetação no Distrito Federal entre 30 de agosto à 25 de outubro de 2021 (estação seca) e entre 29 de janeiro à 22 de março de 2022 (estação chuvosa). Os valores foram estimados a partir dos seguintes tratamentos avaliados: autopolinização espontânea: AE (roxo), polinização por mandaçaia: PM (azul), polinização por mandaçaia e soprador: PMPS (verde) e polinização por soprador: PS (amarelo). Pontos pretos pequenos representam dispersão

dos dados, enquanto pontos maiores representam valores médios e barras de erro, percentis. Letras (a,b,c) representam diferenças significativas entre tratamentos.....161

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Síntese de estudos que relacionam o uso de abelhas sem ferrão para a polinização de cultivos com as condições ambientais de confinamento (redução da radiação UV e temperatura) em sistemas protegidos realizados no Brasil entre 2002 e 2021. Efeitos indiretos “\*” referem-se àqueles não testados diretamente pelo autor, mas inferidos a partir dos resultados do trabalho..... 31

## CAPÍTULO 1

Table 1. Proportion of absorbed photons normalised in relation to the highest value of “photon catch” (glass light = 1) by all receptors or by each receptor individually: ultraviolet - S (shorter-wavelength), blue - M (medium-wavelength), and green - L (longer-wavelength). The treatments evaluated were as follows: UV+/G+ = control, 4 mm clear glass; UV-/G+ = UV blocking film, 4 mm clear glass with UV-blocker film; and UV-/G- = commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue.....64

## CAPÍTULO 2

Table S1 - Mean values and standard error from the different behaviours (return to the hive, leaving from the hive, number of dead bees and visit to resource sources) between treatments for each of the stingless bees species (*M. quadrifasciata*, *F. varia* and *S. cf. postica*). Significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments were represented by letters a, b, c and d.....100

Table S2 – Summary (parameters and standard error) of temperature and UV irradiance (quasipoisson) GLMs models relating to treatments (T), period of the day (PD) or

interaction between both variables (T vs. PD). Models have been fitted for *Scaptotrigona cf. postica*, *Frieseomelitta varia* and *Melipona quadrifasciata*.....101

Table S3 – Summary (parameters and standard error) of entrance, exit, mortality and visits to resource sources (negative binomial or quasipoisson) GLMs models relating to treatments (T), period of the day (PD), days in confinement (DC) or interaction between variables (T vs. PD and T vs. DC). Models have been fitted for *Scaptotrigona cf. postica*, *Frieseomelitta varia* and *Melipona quadrifasciata*.....102

### CAPÍTULO 3

Tabela 1 – Estimativa do número de flores recém abertas à visitação das abelhas por metro linear das duas cultivares do tomateiro (*Lycopersicum. esculentum*) no experimento 1 durante duas semanas de observa o.....113

Tabela 2 – Orienta o da abelha mandaçaia (*M. quadrifasciata*) em olfatômetro em “Y” por voláteis oriundos da parte reprodutiva (experimento 1) ou este associado a parte vegetativa (experimento 2) de plantas de tomateiro (ver detalhes do olfatômetro na figura 4). Foram medidos os seguintes parâmetros comportamentais: tempo de residência, número de escolhas e primeira escolha. “\*” = valor de  $p < 0,05$ ; “\*\*” = valor de  $p < 0,01$ ; “\*\*\*” = valor de  $p < 0,001$ .....129

### CAPÍTULO 4

Tabela 1 – Informa es sobre o manejo das duas cultivares de tomateiro cultivadas organicamente em estufa<sup>1</sup>.....142

Tabela 2 - Conceito dos termos econ micos utilizados nas análises econômicas do estudo.....149

Tabela 3 - Dados de frutifica o (%), abortos (%) e ataque de pragas nos frutos oriundos dos diferentes tratamentos de poliniza o aplicados em flores de tomateiro da **cultivar Italiano** cultivada organicamente em uma estufa com 4.332 m<sup>2</sup>, com cerca de 7 metros de altura de p  direito, coberta no teto com filme plástico difusor de luz 150 micras da

marca GINEGAR e telado de cerca de 5 metros de altura (malha plástica branca de 50 mesh) nas laterais.....153

Tabela 4 - Dados de frutificação (%), abortos (%) e ataque de pragas em cada um dos tratamentos de polinização aplicados em flores de tomateiro na **cultivar Cereja** cultivada organicamente em uma estufa com 4.332 m<sup>2</sup>, com cerca de 7 metros de altura de pé direito, coberta no teto com filme plástico difusor de luz 150 micras da marca GINEGAR e telado de cerca de 5 metros de altura (malha plástica branca de 50 mesh) nas laterais.....154

Tabela 5 – Parâmetros de qualidade dos frutos (peso, diâmetro, comprimento, número de sementes, massa seca de sementes e sólidos solúveis) avaliados para as cultivares do tomateiro Italiano e Cereja em dois períodos de experimento em casa de vegetação no Distrito Federal: entre 30 de agosto e 25 de outubro de 2021 (estação seca) e 29 de janeiro e 22 de março de 2022 (estação chuvosa). Como tratamentos, tivemos: autopolinização espontânea (AE), polinização por abelha *Melipona quadrifasciata* (PM), por soprador (PS), ou por ambos agentes polinizadores (PMPS). Dados de sólidos solúveis só foram obtidos para a cultivar Cereja. Dados apresentados são valores médios e erro padrão (EP). Valores em negrito representam aqueles com maior significância ( $\alpha = 0,05$ ).....156

Tabela 6 - Resumo dos valores médios de produtividade, receita, custo geral com insumos e materiais, investimentos com aquisição e manutenção de caixas de abelhas e soprador, despesas administrativas (ADM) e comerciais (COM), custo e lucro total obtido a partir das informações coletadas pelo questionário (Anexo 2) para as cultivares Italiano e Cereja nos dois períodos de experimentos (estação seca e chuvosa).....158

## SUMÁRIO

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| <b>1</b>  | <b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....   | <b>24</b> |
| 1.1       | A IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS NA POLINIZAÇÃO, NO FUNCIONAMENTO DE ECOSISTEMAS E NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS .....                                     | 24        |
| 1.2       | O PAPEL DAS ABELHAS SEM FERRÃO NA POLINIZAÇÃO AGRÍCOLA .....   | 27        |
| 1.3       | SISTEMAS DE CULTIVO PROTEGIDO: RELAÇÃO ENTRE CONDIÇÕES AMBIENTAIS DE CONFINAMENTO (UV E TEMPERATURA) E ABELHAS ..                              | 28        |
| 1.4       | ASPECTOS REPRODUTIVOS E A POLINIZAÇÃO DO TOMATEIRO ....  | 36        |
| 1.5       | OBJETIVOS E HIPÓTESES .....  | 38        |
| 1.6       | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....   | 41        |
| <b>2.</b> | <b>CAPÍTULO 1 - INFLUENCE OF ULTRAVIOLET RADIATION AND TEMPERATURE ON THE PHOTOTACTIC RESPONSE OF TROPICAL SPECIES OF STINGLESS BEES</b> ..... | <b>48</b> |
| 2.1       | ABSTRACT .....   | 49        |
| 2.2       | INTRODUCTION.....  | 49        |
| 2.3       | MATERIAL AND METHODS .....   | 51        |
| 2.3.1     | Study area.....  | 51        |
| 2.3.2     | Stingless bee species.....   | 51        |
| 2.3.3     | Experimental setup and visual treatments.....  | 51        |
| 2.3.4     | Experiment 1: Effects of ultraviolet and green light on the phototactic orientation of stingless bees .....                                    | 54        |
| 2.3.5     | Experiment 2: Effect of temperature on the phototactic orientation of stingless bees .....   | 56        |
| 2.3.6     | Statistical analyses .....   | 57        |
| 2.4       | RESULTS.....   | 58        |
| 2.4.1     | Experiment 1: Effects of ultraviolet and green light on the phototactic orientation of stingless bees .....                                    | 58        |
| 2.4.2     | Experiment 2: Effect of temperature on the phototactic orientation of stingless bees .....   | 61        |
| 2.5       | DISCUSSION .....   | 63        |
| 2.5.1     | Modulation of phototaxis by ultraviolet and green light in stingless bees .....  | 63        |
| 2.5.2     | Influence of temperature on the phototaxis of stingless bees .....   | 66        |
| 2.5.3     | Light, temperature, and use of stingless bees as pollinators in protected crops .....  | 67        |
| 2.6       | ACKNOWLEDGMENTS .....  | 68        |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 2.7       | COMPETING INTERESTS .....  | 68        |
| 2.8       | FUNDING .....  | 68        |
| 2.9       | REFERENCES .....   | 68        |
| <b>3.</b> | <b>CAPÍTULO 2- EFFECT OF ULTRAVIOLET AND GREEN RADIATION AND TEMPERATURE ON FLIGHT ACTIVITY AND FORAGING OF THREE TROPICAL STINGLESS BEES.....</b> | <b>73</b> |
| 3.1       | ABSTRACT .....   | 74        |
| 3.2       | INTRODUCTION.....  | 74        |
| 3.3       | MATERIAL AND METHODS .....   | 76        |
| 3.3.1     | Study area.....  | 76        |
| 3.3.2     | Stingless bee species evaluated .....  | 76        |
| 3.3.3     | Experimental setup and treatments.....   | 77        |
| 3.3.4     | Determination of temperature and time of observation of the stingless .....  | 78        |
| 3.3.5     | Assessment of flight and foraging activity.....  | 79        |
| 3.3.6     | Environmental data.....  | 80        |
| 3.3.7     | Statistical Analyses .....   | 81        |
| 3.4       | RESULTS.....   | 82        |
| 3.4.1     | Evaluation of the temperature and UV light irradiance conditions inside the experimental arenas.....   | 82        |
| 3.4.2     | Effects of treatments, observation period, and confinement days on acclimation and foraging by stingless bees .....                                | 83        |
| 3.5       | DISCUSSION .....   | 85        |
| 3.5.1     | Effects of treatments, observation period, and days of confinement on acclimation and foraging activity in <i>Melipona quadrifasciata</i> .....    | 86        |
| 3.5.2     | Effect of treatments, observation period, and days of confinement on acclimation and foraging activity in <i>Frieseomelitta varia</i> .....        | 88        |
| 3.5.3     | Effects of treatments, time of day, and days of confinement on acclimation and foraging activity in <i>Scaptotrigona cf. postica</i> .....         | 89        |
| 3.6       | CONCLUSIONS .....  | 91        |
| 3.7       | REFERENCES .....   | 92        |
| 3.8       | ACKNOWLEDGMENTS.....   | 95        |
| 3.9       | FUNDING DETAILS .....  | 95        |
| 3.10      | DISCLOSURE STATEMENT.....  | 95        |
| 3.11      | FIGURES .....  | 95        |
| 3.12      | SUPPLEMENTARY MATERIAL - TABLES E FIGURES .....  | 100       |
| <b>4.</b> | <b>CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA VISITAÇÃO DA ABELHA SEM FERRÃO <i>Melipona quadrifasciata</i> em FLORES DE duas cultivares de TOMATEIRO</b>           |           |

|  |            |
|--|------------|
| <b>(<i>Lycopersicon esculentum</i> L.) E SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS FLORAIS .....</b>   | <b>106</b> |
| 4.1 RESUMO .....   | 106        |
| 4.2 INTRODUÇÃO.....  | 107        |
| 4.3 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 109        |
| <b>4.3.1 Local de estudo .....</b>   | <b>109</b> |
| <b>4.3.2 Espécie de abelha alvo do estudo.....</b>   | <b>110</b> |
| <b>4.3.3 Cultivares de tomateiro avaliadas.....</b>  | <b>111</b> |
| <b>4.3.4 Avaliação da preferência de <i>M. quadrifasciata</i> por flores de diferentes cultivares de tomateiro em casa de vegetação .....</b>  | <b>111</b> |
| <b>4.3.5 Caracterização dos atributos florais dos cultivares do tomateiro....</b>  | <b>115</b> |
| <b>4.3.6 Voláteis florais e comportamento das forrageiras de <i>M. quadrifasciata</i> .....</b>  | <b>118</b> |
| <b>4.3.7 Avaliação da influência do aumento do número de abelhas forrageiras sobre a visitação em flores das cultivares.....</b>   | <b>121</b> |
| 4.4 RESULTADOS .....   | 121        |
| <b>4.4.1 Avaliação da preferência de <i>M. quadrifasciata</i> por flores de diferentes cultivares de tomateiro em casa de vegetação .....</b>  | <b>121</b> |
| <b>4.4.2 Caracterização dos atributos florais das cultivares do tomateiro....</b>  | <b>122</b> |
| <b>4.4.3 Voláteis florais e comportamento das forrageiras de <i>M. quadrifasciata</i> .....</b>  | <b>126</b> |
| <b>4.4.4 Avaliação da influência do aumento do número de abelhas forrageiras sobre a visitação em flores das cultivares.....</b>   | <b>128</b> |
| 4.5 DISCUSSÃO.....   | 129        |
| 4.6 CONCLUSÕES.....  | 134        |
| 4.7 REFERÊNCIAS .....  | 134        |
| <b>5. CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO ECONÔMICA DA POLINIZAÇÃO ASSISTIDA PELA ABELHA SEM FERRÃO, <i>MELIPONA QUADRIFASCIATA</i>, EM DUAS CULTIVARES DE TOMATEIRO, <i>LYCOPERSICON ESCULENTUM</i> Mill (Solanaceae), EM SISTEMA ORGÂNICO PROTEGIDO .....</b> | <b>138</b> |
| 5.1 RESUMO .....   | 138        |
| 5.2 INTRODUÇÃO.....  | 139        |
| 5.3 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 142        |
| <b>5.3.1 Área de estudo.....</b>   | <b>142</b> |
| <b>5.3.2 Dados ambientais.....</b>   | <b>143</b> |
| <b>5.3.3 Abelha <i>Melipona quadrifasciata</i> (mandaçaia) .....</b>   | <b>144</b> |
| <b>5.3.4 Cultivares de tomateiro avaliadas.....</b>  | <b>144</b> |
| <b>5.3.5 Tratamentos e amostragem .....</b>  | <b>145</b> |
| <b>5.3.6 Dados de produção .....</b>   | <b>146</b> |

|       |  |     |
|-------|--|-----|
| 5.3.7 | Análises econômicas .....  | 147 |
| 5.3.8 | Análise dos dados.....   | 150 |
| 5.4   | RESULTADOS .....   | 150 |
| 5.4.1 | Avaliação das condições ambientais da estufa e atividade das forrageiras de <i>M. quadrifasciata</i> .....   | 150 |
| 5.4.2 | Efeitos da polinização sobre a frutificação e os parâmetros de qualidade do tomateiro .....  | 152 |
| 5.4.3 | Efeitos da polinização mediada pela abelha mandaçaia e pelo soprador sobre a produtividade e avaliação econômica do tomateiro cultivado organicamente em casa de vegetação ..... | 156 |
| 5.5   | DISCUSSÃO.....   | 162 |
| 5.5.1 | Efeitos da polinização sobre a frutificação e os parâmetros de qualidade do tomateiro .....  | 162 |
| 5.5.2 | Efeitos da polinização sobre a produtividade do tomateiro e medidas econômicas .....   | 166 |
| 5.5.3 | Implicações ecológicas e econômicas associadas a suplementação do serviço polinização por abelhas em estufas.....  | 171 |
| 5.6   | CONCLUSÕES.....  | 172 |
| 5.7   | REFERÊNCIAS .....  | 173 |
| 6.    | CONSIDERAÇÕES FINAIS da tese.....  | 178 |
| 7.    | ANEXOS .....   | 181 |

*Citações e referências da tese formatadas de acordo com as normas da ABNT, com exceção dos capítulos 1 e 2.*



## 1. REFERENCIAL TEÓRICO

Estimativas de crescimento populacional apontam que até 2050 haverá um aumento de aproximadamente 34% da população mundial, que corresponde a cerca de 9.9 bilhões de pessoas (PRB, 2016). Em paralelo, cresce a demanda pela produção de alimentos, projetada para dobrar neste mesmo período (KREMEN; MILES, 2012). Nas últimas décadas, surgiram iniciativas internacionais visando garantir a segurança alimentar em todo o mundo. A Agenda 2030, reformulada em 2015, constitui um plano de ação que abrange 17 Objetivos para o Desenvolvimento Sustentável (ODS) e metas a serem atingidas até o ano de 2030. Entre os objetivos, destaca-se a erradicação da fome, melhora da nutrição e fomento de uma agricultura sustentável, além da proteção dos ecossistemas naturais e sua biodiversidade associada (UN, 2015). Esta biodiversidade é determinante para a produção de alimentos, graças ao provimento de serviços ecossistêmicos essenciais, como a polinização por animais (GARIBALDI *et al.*, 2016; DAINESE *et al.*, 2019). O entendimento de questões ecológicas associadas a este serviço, como avanços no conhecimento sobre a interação planta-polinizador, comportamentos ligados ao forrageamento ou ainda, impactos de fatores ambientais sobre os provedores destes serviços são importantes para garantir uma maior efetividade dos mesmos.

### 1.1 A IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS NA POLINIZAÇÃO, NO FUNCIONAMENTO DE ECOSSISTEMAS E NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS

A polinização é considerada fundamental para a estruturação e manutenção de ecossistemas naturais por contribuir para a reprodução sexual das plantas com flores. Estima-se que mais de 90% de 300.000 espécies de plantas são beneficiadas por esta interação (IPBES, 2016). Em sistemas agrícolas, 85% das espécies cultiváveis são beneficiadas em algum nível por este serviço, contribuindo tanto para a produção de alimentos em si, mas também para o aumento da variedade destes produtos alimentícios, melhorando a nutrição e dieta humana. Estimativas recentes atribuíram ao serviço de polinização o valor de 235-577 bilhões de dólares em 2015 em todo o mundo (IPBES, 2016). No Brasil, Giannini *et al.* (2015) avaliaram que a polinização associada à produção agrícola possui um valor de 12 bilhões de dólares ao ano.

Entre os agentes bióticos de polinização, as abelhas se destacam como o grupo de animais de maior importância. A diversidade de adaptações, sejam elas morfológicas ou comportamentais, possibilitam que estes insetos explorem uma ampla gama de tipos florais, tornando-os bastante eficientes na polinização das plantas silvestres e cultivadas (RECH *et al.*,

35 2014). Em levantamento recente feito pela Plataforma Brasileira de Biodiversidade e Serviços  
36 Ecosistêmicos (BPBES, 2019), identificou-se que só no Brasil, 91 espécies de plantas  
37 cultiváveis são polinizadas por abelhas, e 74 destes cultivos, são polinizados exclusivamente  
38 por este grupo. Apesar do reconhecimento da importância das abelhas como agentes  
39 polinizadores em sistemas naturais e sobre a produção de alimentos, estes animais estão sendo  
40 ameaçados por diversas pressões antrópicas, onde destaca-se a (i) introdução de espécies  
41 exóticas (*i.e.* polinizadores, pragas e patógenos); (ii) mudanças climáticas; (iii) mudanças no  
42 uso da terra, principalmente pelo modelo de agricultura intensiva e de larga escala, assim como  
43 pelo (iv) uso abusivo de agrotóxicos, muitos destes com efeitos letais ou subletais conhecidos  
44 sobre as abelhas (POTTS *et al.*, 2010; IPBES, 2016; ROSSI *et al.*, 2020). Desta forma, uma  
45 série de práticas de intensificação ecológica tem sido desenvolvidas e aplicadas no mundo em  
46 vista a reduzir os efeitos negativos das pressões antrópicas sobre os polinizadores, reduzir as  
47 pressões sobre os sistemas naturais e garantir a segurança alimentar.

48 A intensificação ecológica consiste no uso competente de funções e serviços da  
49 natureza, em diferentes escalas, visando o aumento da produtividade agrícola e a diminuição  
50 da necessidade de mudanças no uso da terra e dependência de insumos químicos (KOVÁCS-  
51 HOSTYÁNSZKI *et al.*, 2017). Tais práticas envolvem, por exemplo, ações de manejo dentro e  
52 fora dos campos (*e.g.* redução do uso de inseticidas; plantio de faixas de flores, chamadas *flower*  
53 *strips*; conservação e restauração de áreas naturais dentro da paisagem agrícola) (GARIBALDI  
54 *et al.*, 2014), ou o manejo de espécies de polinizadores específicas (*e.g.* a partir da inserção de  
55 caixas de abelhas manejadas ou locais de nidificação para colonização de espécies-alvo)  
56 (MILFONT *et al.*, 2013; HORTH; CAMPBELL, 2017). A adoção destas práticas, contudo,  
57 ainda é incipiente em diversos países. Buscando suprir a falta de polinizadores em campos  
58 agrícolas, muitos produtores são obrigados a utilizar técnicas artificiais de polinização, como a  
59 polinização manual, uso de spray com pólen suspenso, uso de sopradores ou vibradores  
60 elétricos, na tentativa de reproduzir o comportamento natural de algumas espécies de  
61 polinizadores. Entretanto, a aplicação destes métodos tende a elevar os custos de produção  
62 (WESTERKAMP; GOTTSBERGER, 2000) e ser menos efetiva na produção quando  
63 comparada a polinização por abelhas manejadas ou silvestres (COOLEY; VALLEJO-MARIN,  
64 2021). O manejo adequado de polinizadores, portanto, surge como uma prática necessária para  
65 reduzir o déficit de polinização de plantas cultivadas (BPBES, 2019).

66 Há uma elevada diversidade de espécies de abelhas descritas no mundo (*i.e.* mais de  
67 20.000) (IPBES, 2016), mas poucas têm sido manejadas comercialmente para a polinização de  
68 plantas cultivadas. Entre as abelhas sociais, a abelha melífera (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758)

69 é a espécie mais utilizada para a polinização em sistemas agrícolas, por seu manejo conhecido  
70 e abundância (CRUZ; CAMPOS, 2009). Contudo, o uso desta abelha possui algumas  
71 desvantagens: é uma espécie exótica em diversos países, como no Brasil e apresenta ferrão  
72 funcional, dificultando sua manipulação. Além do mais, a abelha do mel é polinizadora ineficaz  
73 de diversos cultivos, como espécies da família Solanaceae (e.g. tomateiro, *Lycopersicon*  
74 *esculentum* Mill), que são mais beneficiadas pela polinização através do comportamento de  
75 vibração sobre a flor, conhecido como “*buzz polination*” (SLAA *et al.*, 2006; CRUZ;  
76 CAMPOS, 2009). Outro exemplo é o maracujazeiro (*Passiflora sp.*) que devido ao tamanho  
77 das flores, tem seu recurso pilhado por esta abelha sem que haja a polinização (SILVA *et al.*,  
78 2014). Outras espécies sociais, comumente conhecidas como mamangavas, pertencentes ao  
79 gênero *Bombus*, têm sido amplamente utilizadas comercialmente para polinização de culturas  
80 desde 1987, sobretudo em países da Europa (*B. terrestris* Linnaeus, 1758), América do Norte  
81 (*B. impatiens* Cresson), América do Sul (*B. atratus* Franklin, 1913) e Ásia (*B. ignitus* Smith,  
82 1869) (SOWMYA *et al.*, 2015; ROUBICK *et al.*, 2018). No Brasil, há outras seis espécies do  
83 gênero *Bombus*, porém a falta de conhecimento sobre a criação e a dificuldade no manejo destas  
84 abelhas, por sua elevada agressividade, dificultam o desenvolvimento de tecnologias para o uso  
85 destas espécies destinado para a polinização (CRUZ; CAMPOS, 2009).

86 Algumas espécies de abelhas de hábito de vida solitário também contribuem para a  
87 polinização de diversas culturas (NETO *et al.*, 2018). Nestas espécies, as fêmeas possuem ciclo  
88 de vida curto, não formam colônias, e normalmente vivem sozinhas, o que requer formas de  
89 manejo distintos quando comparado as abelhas sociais (NETO *et al.*, 2018). Para algumas  
90 espécies do gênero *Xylocopa*, por exemplo, importantes polinizadores do maracujazeiro, é  
91 possível fazer um criatório racional a partir do uso de gomos de bambu ou ainda em cavidades  
92 formadas em tábuas de madeira, também chamadas de “Xylocopário” (SILVA *et al.*, 2014;  
93 JUNQUEIRA; AUGUSTO, 2018). Já em outras espécies solitárias, como as do gênero *Centris*  
94 *sp.* e *Epicharis sp.*, importantes polinizadores desta e de outras culturas como a aceroleira, a  
95 nidificação ocorre no solo, sendo mais difícil o seu manejo. Nestes casos, é fundamental a  
96 conservação e manutenção de áreas com solo arenoso no entorno dos plantios, visando a  
97 conservação destas espécies (SILVA *et al.*, 2014). Desta forma, existe um enorme potencial  
98 para o uso de abelhas solitárias para a polinização de culturas, sendo necessários avanços nos  
99 estudos sobre biologia e manejo destas espécies alinhado com ações de conservação que  
100 garantam a permanência dos seus locais de nidificação.

101 O sucesso no provimento do serviço de polinização em áreas agrícolas está diretamente  
102 associado a manutenção de componentes da biodiversidade, como abundância e riqueza de

103 espécies. Em levantamento recente feito em âmbito global, Dainese *et al* (2019) observaram  
104 um efeito positivo da riqueza e abundância total de espécies sobre os serviços de polinização e  
105 o controle biológico. Embora algumas espécies dominantes pareçam ter maior contribuição no  
106 suprimento destes serviços devido ao efeito negativo da equitabilidade, os autores destacam a  
107 importância de promover paisagens heterogêneas, visando abrigar uma maior diversidade de  
108 espécies. Desta forma, o entendimento do hábito de vida das espécies de polinizadores (*i.e.*  
109 social ou solitário) e seu manejo adequado podem ser importantes ferramentas para promover  
110 comunidades ricas, e assim, garantir a oferta destes serviços na agricultura.

111

## 112 1.2 O PAPEL DAS ABELHAS SEM FERRÃO NA POLINIZAÇÃO AGRÍCOLA

113

114 As abelhas sem ferrão (Apidae: Meliponini) ou meliponíneos constituem um grupo  
115 altamente diverso de abelhas sociais (MICHENER, 2013). No mundo, existem pelo menos 500  
116 espécies já descritas, mas estima-se que este número chegue a 600, enquanto que no Brasil, são  
117 conhecidas mais de 250 espécies (MICHENER, 2013; PEDRO, 2014). Estas abelhas possuem  
118 uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo nas regiões tropicais e subtropicais, desde países  
119 da América Latina (com exceção do Chile), passando pelo extremo sul da Ásia, ilhas do  
120 Pacífico, até ao norte da Oceania. Contudo, a maior parte da diversidade se concentra nas  
121 Américas (VILLAS-BÔAS, 2018). Esta alta diversidade confere ao grupo uma elevada  
122 variação no tamanho do corpo, número de indivíduos por colônia e em estratégias de  
123 alimentação entre espécies (VILLAS-BÔAS, 2018). Por fim, o nome popular destas abelhas se  
124 deve a ausência de ferrão funcional, impossibilitando seu uso como forma de defesa.

125 Os meliponíneos são conhecidos por sua importância no provimento de serviços  
126 ecossistêmicos por atuarem como polinizadores (HEARD, 1999; AMANO *et al.*, 2000; SLAA  
127 *et al.*, 2006). Apenas no Brasil, já são conhecidas 41 espécies de abelhas sem ferrão como  
128 polinizadoras efetivas em áreas de cultivo, sendo 12 destas espécies já manejadas para  
129 suplementar o serviço de polinização (BPBES, 2019). O café (*Coffea arabica* L.), abacate  
130 (*Persea americana* M.), morango (*Fragaria x ananassa* D.), pimentão (*Capsicum annuum* L.)  
131 e tomate (*L. esculentum* M.) são apenas alguns exemplos de culturas beneficiadas pela  
132 polinização por estas abelhas (SLAA *et al.*, 2006; BPBES, 2019).

133 Diversas características que conferem vantagens a este grupo para o uso em serviços de  
134 polinização (SLAA *et al.*, 2006; ROUBIK *et al.*, 2018). Além da ausência de ferrão funcional,  
135 estas abelhas possuem área de ação de voo pequena (< 1 km, GREENLEAF *et al.*, 2007),  
136 reduzindo a chance de polinizar outras áreas que não aquelas de interesse. Diferente de outros

137 grupos de abelhas, como espécies de *Bombus* sp., suas colônias podem viver naturalmente por  
138 muitos anos, permitindo seu uso racional por longos períodos de tempo. Outra característica  
139 importante destas abelhas refere-se ao fato de serem forrageadoras generalistas em nível da  
140 colônia, mas especialistas em nível do indivíduo, conferindo a elas a característica de constância  
141 floral. Outra vantagem neste grupo de abelhas refere-se ao fato das colônias serem fixas, uma  
142 vez que as rainhas não conseguem mais voar após realizarem a cópula com macho. Espécies de  
143 meliponíneos do gênero *Melipona* possuem o comportamento de *buzz-pollination*, que consiste  
144 na vibração da musculatura das asas destes insetos nas flores, promovendo a retirada de pólen  
145 de anteras especializadas, chamadas poricidas, e conseqüentemente, promovendo a  
146 transferência de grãos de pólen para estigma. Por último, essas abelhas também são conhecidas  
147 por serem polinizadores eficientes em sistemas agrícolas protegidos.

148

### 149 1.3 SISTEMAS DE CULTIVO PROTEGIDO: RELAÇÃO ENTRE CONDIÇÕES 150 AMBIENTAIS DE CONFINAMENTO (UV E TEMPERATURA) E ABELHAS

151

152 A crescente demanda do mercado por produtos de qualidade tem levado a implantação  
153 de métodos tecnológicos alternativos (*i.e.* agricultura orgânica) e sistemas de produção agrícola  
154 mais especializados (*i.e.* sistemas protegidos). Os métodos de produção orgânica passaram a  
155 ganhar maior relevância comercial no Brasil ao final da década de 90. Porém, somente a partir  
156 da publicação da Lei nº 10.831 de 2003, e sua posterior regulamentação, por meio do Decreto  
157 6.323, de 2007, é que pôde-se definir as normas para a produção e comercialização de produtos  
158 da agricultura orgânica (DA COSTA *et al.*, 2017). Os métodos de produção orgânica são  
159 pautados no uso de tecnologias que otimizem o uso de recursos naturais e socioeconômicos e  
160 eliminam o uso de insumos químicos artificiais (*e.g.* agrotóxicos e fertilizantes) ou  
161 transgênicos, comumente usados no modelo de agricultura convencional (VALARINI *et al.*,  
162 2005). Além disto, tais métodos são alinhados com princípios ecológicos, ao considerarem, por  
163 exemplo, aspectos como a manutenção e estrutura dos ecossistemas e suas funções e a  
164 manutenção da diversidade biológica (IFOAM, 2022).

165 Os sistemas de produção protegidos (*i.e.* aqui também denominados de casas de  
166 vegetação e estufas), por sua vez, são sistemas de cultivo caracterizados por reduzir o stress  
167 sobre as plantas cultivadas frente a condições ambientais adversas. Chang *et al* (2013)  
168 estimaram que, em 20 anos (1990-2010) em nível mundial, o plantio protegido cresceu 400%,  
169 alcançando uma área de 3.668.015 hectares. No Brasil, até 2005, haviam 13.000 hectares de  
170 área com cultivo protegido. Em 2022, estimativas indicam que esta área aumentou em cerca de

171 169%, chegando a um total de 35.000 hectares (COBAPLA 2022). Estes sistemas variam em  
172 forma, tamanho e material de cobertura e normalmente são cobertos por vidro ou diferentes  
173 tipos de materiais plásticos (JAMES; PITTS-SINGER, 2008).

174 Os benefícios do uso de sistemas protegidos envolvem: o uso eficiente de água e  
175 fertilizantes; maior qualidade da produção, controle de insetos-praga e conseqüentemente, a  
176 redução do uso de pesticidas (JAMES; PITTS-SINGER, 2008). Em casas de vegetação  
177 totalmente fechadas no teto e laterais, a redução na incidência de pragas nestes sistemas se deve  
178 não só por promover uma barreira mecânica, mas também pelo uso de materiais de cobertura  
179 que filtram parcial ou totalmente (*i.e.* 99%) a radiação ultravioleta (UV) (JAMES; PITTS-  
180 SINGER, 2008). Assim como a maior parte dos insetos, os insetos-praga se orientam a partir  
181 da percepção da luz em comprimentos de onda que variam de 350-700 nm, por meio do  
182 comportamento de fototaxia (LAND, 1997; PARK; LEE, 2017). Diante disso, diversos  
183 trabalhos apontam impactos negativos na imigração, desenvolvimento e dispersão destes  
184 insetos quando submetidos a condição de redução do UV (300-400 nm) (ANTIGNUS; BEM-  
185 YAKIR 2004; SHIMOD; HONDA, 2013). Contudo, ainda há uma carência de estudos  
186 envolvendo o efeito destes materiais sobre outros grupos de insetos, como as abelhas.

187 A polinização agrícola por abelhas em sistemas protegidos é comum em diversas partes  
188 do mundo. Esta prática tem crescido devido aos benefícios associados a produção provenientes  
189 da polinização por estes animais às principais hortaliças cultivadas nestes sistemas, sendo elas:  
190 tomate, pimentão, berinjela (Solanaceae), melão, melancia, abobrinha e pepino  
191 (Cucurbitaceae), morango (Rosaceae) e feijão verde (Fabaceae) (JAMES; PITTS-SINGER  
192 2008). Atualmente, *Bombus sp.* e *A. mellifera* são as abelhas mais utilizadas como polinizadores  
193 em casas de vegetação. No mundo, cerca de 95% da produção comercial de abelhas do gênero  
194 *Bombus* é destinada a polinização do tomateiro nestes ambientes (ROUBIK *et al.*, 2018).  
195 Entretanto, o uso dos meliponíneos para a polinização nestes em casas de vegetação ainda é  
196 incipiente.

197 A partir da década de 90, meliponíneos começaram a ser testados como potenciais  
198 polinizadores em casas de vegetação no Japão (AMANO *et al.*, 2000). No Brasil, em  
199 experimento feito por Bispo dos Santos *et al* (2009), observou-se que *Melipona quadrifasciata*  
200 Lepeletier (1836) foi mais eficiente na polinização do tomateiro em casas de vegetação do que  
201 *A. mellifera*, melhorando significativamente a quantidade e qualidade dos frutos produzidos.  
202 Outros trabalhos têm mostrado benefícios na produtividade a partir do uso de abelhas deste  
203 grupo ao polinizarem nestes ambientes, como a abelha jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille,  
204 1811) no morango, tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854) na berinjela, jandaíra (*Melipona*

205 *subnitida* Ducke, 1910) no tomate, entre outras (mais detalhes na Tabela 1). Entretanto, estudos  
206 têm indicado uma série de limitações para o uso/manejo destas abelhas em cultivos protegidos,  
207 como por exemplo, a dificuldade de aclimação destas abelhas às condições ambientais de  
208 confinamento, seja pela redução da luminosidade na faixa do UV (MORANDIN *et al.*, 2002;  
209 BARTELLI *et al.*, 2014a; NICODEMO *et al.*, 2018; SILVA-NETO *et al.*, 2018) ou por  
210 temperaturas elevadas (AMANO *et al.*, 2000; MEYRELLES, 2013; SILVA *et al.*, 2016; 2017).

Tabela 1 – Síntese de estudos que relacionam o uso de abelhas sem ferrão para a polinização de cultivos com as condições ambientais de confinamento (redução da radiação UV e temperatura) em sistemas protegidos realizados no Brasil entre 2002 e 2021. Efeitos indiretos “\*” referem-se àqueles não testados diretamente pelo autor, mas inferidos a partir dos resultados do trabalho.

| Espécie (nome popular)                               | Cultura alvo | Parâmetro avaliado                          | Sumário dos Resultados  | Efeito das condições de confinamento sobre as abelhas | Fonte  |
|--|--------------|---|---|---|--|
| <i>Apis mellifera</i> (abelha do mel)                | Pepino       | Visitação em flores; estoque de alimento    | Poliniza  | Luz UV: efeito negativo (Indireto)*                   | Nicodemo <i>et al.</i> , 2018  |
|  | Morango      | Área de cria dos ninhos; produção de frutos | Redução das áreas de cria ao final do período de confinamento; Menor número de frutos deformados com polinização (diferiu entre cultivares)             | Temperatura: efeito negativo (Indireto)*              | Calvete <i>et al.</i> , 2010   |
|  | Tomate       | Produção dos frutos; produtividade          | Não aumentou o tamanho dos frutos ou a produtividade, apenas o número de sementes   | não avaliado  | Bispo dos Santos <i>et al.</i> , 2009  |
| <i>Frieseomellita varia</i> (moça branca, marmelada) | Tomate       | Atividade de forrageio; produção dos frutos | Não se aclimatou bem às condições da casa   | Temperatura: efeito negativo (Indireto)*              | Meyrelles, 2013  |
| <i>Melipona bicolor</i> (guaraipo ou guarupu)        | Tomate       | Atividade de forrageio; produção dos frutos | Promove a polinização por vibração e aumenta a produção de frutos.  | não avaliado  | Moraes-Moura <i>et al.</i> , 2021  |
| <i>Melipona fasciculata</i> (tiúba)                  | Berinjela    | Produção de frutos                          | Promove a polinização e aumenta a produção de frutos.   | não avaliado  | Nunes-Silva <i>et al.</i> , 2013   |
| <i>Melipona quadrfasciata</i> (mandaçaia)            | Tomate       | Atividade de forrageio; Produção dos frutos | Em alguns trabalhos, teve dificuldade de se aclimatar; Aumento da taxa de frutificação; Frutos mais pesados e com maior massa seca e número de sementes | Luz UV e temperatura: efeito negativo (Indireto)*     | Del Sarto <i>et al.</i> , 2005; Bispo dos Santos <i>et al.</i> , 2009; Meyrelles, 2013 <sup>2</sup> ; Baptistela, 2013; Bartelli <i>et al.</i> , 2014 <sup>1</sup> (a,b); Moraes, 2014; Silva-Neto <i>et al.</i> , 2018 <sup>1</sup> |



|  |   |   |   |  |  |
|--|---|---|---|--|--|
| <i>Melipona subnitida</i> (jandaíra)           | Pimentão                                | Atividade de forrageio; produção dos frutos | Frutos mais pesados e maiores   | não avaliado   | Roselino <i>et al.</i> , 2010                      |
|  | Melão                                   | Visitação de flores; polinização            | Não polinizou   | não avaliado   | Bomfim <i>et al.</i> , 2014                        |
|  | Pimentão                                | Produção dos frutos                         | Frutos mais pesados, mais largos e com mais sementes, baixo número de frutos deformados   | não avaliado   | Cruz <i>et al.</i> , 2005                          |
|  |   | Biologia floral; Produção dos frutos        | Desenvolvimento de frutos independe do polinizador.   | não avaliado   | Silva <i>et al.</i> , 2005                         |
| <i>Melipona scutellaris</i> (uruçu nordestina) |   | Atividade de forrageio                      | Forrageia durante todo o dia  | não avaliado   | Cruz <i>et al.</i> , 2004                          |
|  | -                                       | Aclimação; atividade de forrageio           | Não se adaptaram as condições de temperatura da estufa; cessaram a atividade de forrageio após o terceiro dia de confinamento sob temperaturas médias de 49°C | Temperatura: efeito negativo                             | Maia <i>et al.</i> , 2017                          |
|  | Pimentão                                | Produção dos frutos                         | Frutos maiores, mais pesados e com mais sementes  | não avaliado   | Roselino <i>et al.</i> , 2010                      |
|  | <i>Nannotrigona bipunctata</i> (tibuna) | Pimenta doce                                | Produção dos frutos;  | Aumenta o peso dos frutos mas não a produção de sementes | não avaliado                                       |
| <i>Nannotrigona testaceicornis</i> (iraí)      | Cenoura                                 | Produção dos frutos;                        | Aumentou a produção de sementes   | não avaliado   | Nascimento <i>et al.</i> , 2012                    |
|  | Morango                                 | Visitação das flores; produção dos frutos   | Visitou a flor mas preferiu outras flores; não aumentou a produção  | não avaliado   | Malagodi-Braga, 2002                               |
|  | Pepino                                  | Produção dos frutos                         | Aumentou a produção de sementes e menor taxa de frutos deformados   | não avaliado   | Santos <i>et al.</i> , 2008                        |
| <i>Partamona helleri</i> (boca-de-sapo)        | Tomate                                  | Produção dos frutos                         | Polinizou e aumentou a produção   | Luz UV e temperatura: efeito negativo (Indireto)*        | Meyrelles, 2013; Moraes-Moura <i>et al.</i> , 2021 |
|  | Tomate                                  | Produção dos frutos                         | Não polinizou   | não avaliado   | Moraes-Moura <i>et al.</i> , 2021                  |
| <i>Plebeia nigriceps</i> (mirim)               | Morango                                 | Produção dos frutos                         | Menos frutos deformados   | não avaliado   | Witter <i>et al.</i> , 2012                        |
| <i>Scaptotrigona sp.</i>                       | Melão                                   | Visitação de flores; polinização            | Visita flores para coletar nectar   | não avaliado   | Bomfim <i>et al.</i> , 2014                        |

|   |              |                     |   |  |   |
|---|--------------|---------------------|---|--|---|
|   | Berinjela    | Produção dos frutos | Não visitou as flores   | Temperatura: efeito negativo (Indireto)* | Silva <i>et al.</i> , 2016  |
| <i>Scaptotrigona aff. depilis</i>         | Pepino       | Produção dos frutos | Aumentou a produção de sementes e menor taxa de frutos deformados | não avaliado                             | Santos <i>et al.</i> , 2008   |
| <i>Scaptotrigona bipunctata</i> (tubuna)  | Morango      | Produção dos frutos | Não se adaptou às condições da casa                               | não avaliado                             | Malagodi-Braga, 2002  |
| <i>Schwarziana quadripunctata</i> (guira) | Morango      | Produção dos frutos | Não se adaptou às condições da casa                               | não avaliado                             | Malagodi-Braga, 2002  |
| <i>Tetragonisca angustula</i> (jataí)     | Morango      | Produção dos frutos | Frutos mais bem formados e pesados                                | não avaliado                             | Malagodi-Braga, 2002;<br>Malagodi-Braga & Kleinert, 2004;<br>Antunes <i>et al.</i> , 2007 |
|   | Cenoura      | Produção dos frutos | Apresenta potencial, mas não influenciou na qualidade do fruto    | não avaliado                             | Nascimento <i>et al.</i> , 2012   |
|   | Pimenta doce | Produção dos frutos | Não foi observado impacto na produção                             | não avaliado                             | Nascimento <i>et al.</i> , 2012   |
| <i>Trigona spineps</i> (arapuá)           | Cenoura      | Produção dos frutos | Não foi observado impacto na produção                             | não avaliado                             | Nascimento <i>et al.</i> , 2012   |
|   | Pimenta doce | Produção dos frutos | Não foi observado impacto na produção                             | não avaliado                             | Nascimento <i>et al.</i> , 2012   |
|   | Morango      | Produção dos frutos | Frutos mais bem formados e pesados                                | não avaliado                             | Malagodi-Braga, 2002  |

---

Fonte: levantamento bibliográfico feito pelo autor.

207 A luz ultravioleta (UV) consiste em uma faixa do espectro da radiação  
208 eletromagnética, com comprimento de onda variando entre 40 a 400 nanômetros (nm). A  
209 luz UV compõe cerca de 7% da radiação solar, embora apenas 3% chegue a superfície  
210 terrestre (286-400 nm), devido a fenômenos de reflexão e absorção que ocorrem na  
211 atmosfera (SILBERGLIED, 1979). A faixa de radiação UV subdivide-se em UV-C (200-  
212 290nm), UV-B (290-320nm) e UV-A (320-400nm). Contudo, a faixa do UV-A chega em  
213 maior quantidade na superfície da Terra (95%), quando comparada as outras faixas  
214 (<10%). Diversos trabalhos têm discutido o efeito de alterações no padrão de incidência  
215 da luz UV sobre as plantas (LLORENS *et al.*, 2015), os insetos (MENZEL; GREGGERS  
216 1985; GIURFA *et al.*, 1996; SHIMODA; HONDA, 2013; NOUVIN; GALIZIA, 2020) e  
217 suas interações (BEM-YAKIR; FERERES, 2016).

218 As abelhas, assim como outros grupos de insetos, possuem dois tipos de órgãos  
219 visuais: um par de olhos compostos e três ocelos. Os ocelos (do grego *ocelli*, que significa  
220 “pequenos olhos”) possuem a função de percepção da intensidade luminosa, sendo  
221 importante para orientação e navegação destes animais. Os olhos compostos, por sua vez,  
222 têm como função principal, a visão (KOHATSU, 2016). A visão das abelhas é  
223 tricromática, possuindo sensibilidade com picos de absorção em três regiões do espectro  
224 de luz: UV (~345 nm), azul (~440 nm) e verde (540 nm) (PEITSCH *et al.* 1992). Segundo  
225 os autores, tal sensibilidade se deve a presença de fotorreceptores específicos, sendo eles:  
226 receptor de comprimento de onda curta (S), comprimento de onda médio (M), e  
227 comprimento de onda longa (L). Todos estes receptores atuam no processamento de cores  
228 e no comportamento de navegação e orientação por fototaxia, essenciais para a  
229 identificação e busca por recursos florais. Porém, estudos com *A. mellifera* tem indicado  
230 que a absorção de luz UV pelo receptor S parece ter maior contribuição para a resposta  
231 fototática (BERTHOLF, 1931; LABHART, 1974; KAISER *et al.*, 1977; NOUVIAN;  
232 GALIZIA, 2020).

233 Estudos sobre o efeito da radiação UV em abelhas têm sido feitos sobretudo para  
234 *A. mellifera* e espécies de *Bombus* sp. De forma geral, trabalhos mostram respostas  
235 variadas frente a redução da luz UV entre espécies e poucos trabalhos comparam o efeito  
236 de diferentes filtros de UV sobre o comportamento das abelhas. Morandin *et al* (2002),  
237 por exemplo, observaram em experimento de escolha com materiais contendo diferentes  
238 filtros de UV que uma maior proporção de indivíduos da espécie *B. impatiens* foi  
239 observada em local com maior quantidade de UV, indicando que o UV pode determinar  
240 o comportamento de escolha destes insetos. Dyer e Chittka (2004) avaliaram o tempo de

241 forrageamento de *B. terrestris* em uma arena com a inclusão ou exclusão da radiação UV.  
242 Os autores relataram que, embora tenha se desorientado inicialmente, *B. terrestris* foi  
243 capaz de se adaptar a esta condição e forragear eficientemente mesmo em condições de  
244 ausência da radiação UV. Embora haja um número crescente de trabalhos feitos em casa  
245 de vegetação com abelhas sem ferrão, a maior parte destes não avalia diretamente o efeito  
246 do filtro UV sobre o comportamento destes insetos. Desta forma, são necessários  
247 trabalhos que avaliem, experimentalmente, os mecanismos fisiológicos e  
248 comportamentais envolvidos no efeito da redução da luz UV sobre a atividade das abelhas  
249 sem ferrão, a fim de desenvolver tecnologias para o uso eficiente destas como  
250 polinizadores frente a estas condições. Torna-se necessário ainda investigar como  
251 diferentes espécies de abelhas deste grupo respondem à redução de luz UV, e em  
252 condições reais de campo, como pode-se garantir condições ambientais adequadas para a  
253 aclimatação e a atividade de polinização destas abelhas, a fim de beneficiar a produção  
254 de cultivos em casas de vegetação.

255 Casas de vegetação, em geral, apresentam temperaturas internas superiores ao  
256 ambiente externo, sobretudo em regiões tropicais (BARTELLI *et al.*, 2014a). Alguns  
257 trabalhos associam esta condição ambiental (*i.e.* temperaturas elevadas) a uma redução  
258 no desenvolvimento/ manutenção da colônia e na atividade de forrageio de abelhas nestes  
259 ambientes (MEYRELLES, 2013; BARTELLI *et al.*, 2014a; SILVA *et al.*, 2016).  
260 Diferentemente da abelha *A. mellifera*, as abelhas sem ferrão são menos eficientes no  
261 processo de termoregulação dos ninhos, sobretudo em condições de baixas temperaturas,  
262 o que talvez justificaria sua distribuição restrita as regiões tropicais e subtropicais  
263 (AMANO *et al.*, 2000). Em estudo feito no Canadá por Morandin *et al* (2002), encontrou-  
264 se uma relação positiva entre a atividade de *B. impatiens* com a temperatura interna de  
265 casas de vegetação, com valores que chegaram a 28°C. Entretanto, em regiões tropicais,  
266 as médias de temperatura nestes ambientes ultrapassam em muito os valores encontrados  
267 pelos autores comparado às regiões temperadas. No Brasil, na região de Uberlândia (MG),  
268 Bartelli *et al* (2014a) encontraram valores de temperatura de até 33°C no mês de outubro,  
269 período mais quente registrado no estudo. Os autores acreditam que as temperaturas  
270 elevadas foram responsáveis por um período de aclimatação mais longo (mais de 20 dias  
271 para realizar o primeiro voo), bem como uma redução da atividade diária de *M.*  
272 *quadrifasciata* (forrageou menos nos horários mais quentes). Da mesma forma, a  
273 ausência de visitas por *Scaptotrigona* sp. em flores de berinjela durante as cinco semanas

274 de observação foram associadas a picos de temperatura que ultrapassaram os 36°C no  
275 interior da casa de vegetação na época do verão em Mossoró (RN) (Silva *et al.*, 2016).

276 A espécie *M. subnitida*, uma abelha sem ferrão natural de regiões quentes do  
277 nordeste do Brasil, foi avaliada quanto a sua biologia termal em condições de  
278 confinamento em casas de vegetação comerciais (SILVA *et al.*, 2017). O estudo  
279 estabeleceu dois limites de temperatura (limite crítico = CT, onde as abelhas deixam de  
280 realizar as atividades normais, vindo a morrer após 24h, e limite letal = LT, temperatura  
281 que leva a 100% de mortalidade dos indivíduos). Os resultados mostraram que, em  
282 situações de acesso a água, houve um CT em 40°C e LT em 44°C, enquanto que na  
283 ausência de água, estes valores reduzem para 39 e 42°C (CT e LT, respectivamente). Estes  
284 estudos demonstram a necessidade de investigar a resposta termo-fisiológica de diferentes  
285 espécies de abelhas sem ferrão, polinizadores potenciais em sistemas protegidos,  
286 sobretudo em regiões tropicais, onde as temperaturas em confinamento podem exceder  
287 os limites térmicos destas espécies. Del Sarto *et al* (2005) sugerem ainda que menores  
288 frequências de visitação em flores de tomate por *M. quadrifasciata* ocorreram devido a  
289 associação de duas condições ambientais encontradas nas casas de vegetação estudadas,  
290 baixa umidade e menor incidência de luz UV. São necessários mais estudos sobre efeitos  
291 interativos entre fatores abióticos, como temperatura e condições de luminosidade (*i.e.*  
292 radiação UV) na atividade de forrageio das abelhas sem ferrão.

293

#### 294 1.4 ASPECTOS REPRODUTIVOS E A POLINIZAÇÃO DO TOMATEIRO

295

296 O tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) é uma espécie herbácea anual da família  
297 Solanaceae. É natural das regiões andinas, mas atualmente é cultivado em diversas partes  
298 do mundo com ampla diversidade de cultivares produzidas comercialmente, sendo um  
299 importante produto na alimentação humana (SILVA-NETO, 2013; GAGLIANONE *et*  
300 *al.*, 2015). No Brasil, esta cultura é considerada uma das principais espécies olerícolas de  
301 importância econômica do país, sendo muito utilizada para a alimentação diária do  
302 brasileiro. Dados do IBGE mostraram que em 2021 foram produzidos aproximadamente  
303 3,8 milhões de toneladas do fruto. A maior parte desta produção (ca. 75%) se concentra  
304 na região Centro-oeste e Sudeste do país, com destaque para o estado de São Paulo, com  
305 produção de 1.016.300 toneladas (26,2%), seguido de Goiás, com 1.012.565 toneladas  
306 (26,1%) e rendimento médio de 97,3 kg/ha (IBGE, 2022).

307 Dado a suscetibilidade desta cultura a doenças e pragas, e redução de  
308 produtividade frente a fatores climáticos adversos, esta espécie tem sido utilizada de  
309 forma ampla em sistemas protegidos (CHARLO *et al.*, 2009). Da mesma forma, sistemas  
310 orgânicos de produção do tomateiro têm crescido anualmente dado a demanda dos  
311 consumidores por produtos de qualidade e preocupação com a saúde e o meio ambiente.  
312 Estima-se que o número de estabelecimentos que adotam este sistema de cultivo para o  
313 tomateiro chegue a 50.000 somente no Brasil (GONÇALVES, 2022). Com o avanço de  
314 novas tecnologias, produtividade média de uma planta de tomateiro no sistema orgânico  
315 é de cerca de 8,0 kg de frutos, valor 60% maior comparado ao obtido no sistema  
316 convencional (GONÇALVES, 2022).

317 O tomateiro possui ciclo de vida curto, com cerca de 95-125 dias entre a  
318 germinação e a formação de frutos, embora este período possa ser influenciado pelo  
319 clima, fertilidade do solo, irrigação, e ataque de pragas e doenças (SILVA *et al.*, 2022).  
320 As cultivares possuem flores amarelas, dispostas em inflorescências, sendo estas  
321 autógamas, hermafroditas, actinomorfas (GAGLIANONE *et al.*, 2015). Em trabalho feito  
322 por Silva-Neto (2013), dados de biologia floral do tomateiro foram obtidos avaliando-se  
323 a cultivar “Saladete”. O autor observou as seguintes características: (i) antese floral inicia  
324 às 6h30min, permanecendo aberta até as 18h e reabrindo no próximo dia; (ii) cada flor  
325 dura cerca de três dias; (iii) cada inflorescência produz cerca de 7 botões florais, abrindo  
326 de duas em duas flores; (iv) o número médio de pétalas, sépalas e anteras foi 5,62, 5,56 e  
327 6,51, respectivamente; (v) a receptividade do estigma se mantém durante todo o período  
328 da abertura floral, permitindo a polinização ao longo destes três dias; (vi) viabilidade  
329 polínica é elevada (cerca de 97%); (vii) produção média de pólen é de 333.244 grãos por  
330 flor, sendo sua oferta maior no período da manhã.

331 Dentre as características florais do gênero *Lycopersicon*, destaca-se a produção de  
332 um único recurso floral (*i.e.* pólen) e morfologia das anteras, que possuem uma abertura  
333 poricida. A liberação do pólen e sua transferência para o estigma só ocorrem se houver  
334 uma movimentação mecânica da flor, seja pela ação do vento ou pelo comportamento de  
335 vibração realizado pelas abelhas nas anteras (GAGLIANONE *et al.*, 2015), caso  
336 contrário, não há polinização e, conseqüentemente, formação de frutos (DEL SARTO *et al.*  
337 *et al.*, 2005). Na ausência do vento e das abelhas, esta transferência se dá pela vibração das  
338 anteras de forma artificial, por exemplo com o uso de sopradores (GAGLIANONE *et al.*,  
339 2015; DEL SARTO *et al.*, 2005). A morfologia especializada das anteras no tomateiro,  
340 portanto, restringe os agentes polinizadores eficientes apenas às abelhas que possuem o

341 comportamento de vibração, o que não ocorre, por exemplo, com *A. mellifera*, que apesar  
342 de vibrar para se comunicar com outras abelhas no ninho, não faz este comportamento ao  
343 visitar as flores (WESTERKAMP; GOTTSBERGER, 2000).

344 Milhares de espécies distribuídas em mais de 50 gêneros de abelhas são  
345 conhecidas por realizarem o comportamento de *buzz pollination* (DE LUCA; VALLEJO-  
346 MÁRIN, 2013). No Brasil, diversas famílias de abelhas nativas fazem este  
347 comportamento, como Andrenidae, Apidae (com exceção de *Apis*), Colletidae, Halictidae  
348 e Megachilidae (GAGLIANONE *et al.*, 2015). Entre as abelhas sem ferrão, as do gênero  
349 *Melipona* realizam o comportamento de vibração nas flores, sendo algumas destas  
350 espécies já avaliadas como polinizadores eficientes no tomateiro (verificar a tabela 1).  
351 Diversos estudos apontaram que houve incremento na produção a partir da polinização  
352 por abelhas sem ferrão na cultura do tomateiro (DEL SARTO *et al.*, 2005; BISPO DOS  
353 SANTOS *et al.*, 2009; MEYRELLES, 2013; BAPTISTELA, 2013; MORAES, 2014;  
354 BARTELLI *et al.*, 2014; SILVA-NETO *et al.*, 2018). Bispo dos Santos *et al* (2009), por  
355 exemplo, observaram que os tomates polinizados pela *Melipona quadrifasciata* tiveram  
356 um aumento de peso variando entre 32-50% quando comparado a ausência de  
357 polinização.

358 As abelhas são capazes de reconhecer as flores com base em diversas pistas, sejam  
359 elas olfativas, de tamanho e forma, padrão de cor (RECH *et al.*, 2014). No tomateiro, há  
360 evidências de atributos florais específicos, como a produção de odores florais (*i.e.*  
361 voláteis), e padrões de reflectância na faixa do UV nas pétalas (VAN DER BLOM, 2010)  
362 que podem ter um papel importante na atratividade de polinizadores. De acordo com  
363 Morse *et al* (2012), a espécie *Bombus impatiens* preferiu visitar as flores do tomateiro  
364 com menos compostos voláteis  $\beta$ -felandreno e -2-careno, que, segundo os autores, estaria  
365 associado a uma menor quantidade de recursos presentes na flor ou como uma indicação  
366 de que estes voláteis são repelentes para as abelhas. Contudo, a produção e presença de  
367 tipos de voláteis pode variar entre cultivares agronômicas (FERNANDES *et al.*, 2019), e  
368 pouco se sabe sobre o papel deste e outros atributos florais sobre a atratividade das  
369 abelhas, e conseqüentemente, na polinização do tomateiro.

370

371

## 372 1.5 OBJETIVOS E HIPÓTESES

373

374 Esta tese teve como objetivo principal avaliar a influência de fatores ambientais  
375 sobre o comportamento, ecologia e manejo de espécies de abelhas sem ferrão visando o  
376 uso dessas espécies na polinização de tomateiro (*L. esculentum*) cultivado organicamente  
377 em sistemas protegidos. Mais especificamente, foi avaliado como as condições  
378 ambientais de confinamento em sistemas protegidos (*i.e.* redução da luz ultravioleta,  
379 verde e aumento da temperatura) afetam a orientação fototática e forrageamento de três  
380 espécies de abelhas sem ferrão (capítulo 1 e 2) previamente avaliadas como potenciais  
381 para a polinização nestes sistemas, conforme Fontes *et al* (2016), se a visitação pela  
382 abelha *Melipona quadrifasciata*, a única espécie modelo selecionada que é polinizadora  
383 efetiva do tomateiro, difere entre flores de duas cultivares de tomateiro com atributos  
384 florais distintos (capítulo 3), e como o provimento de serviços de polinização por estas  
385 abelhas pode ser mais efetivo e rentável para a produtividade agrícola quando comparada  
386 a métodos de polinização artificial (capítulo 4). Com base no que já se conhece sobre os  
387 efeitos das condições de confinamento sobre as abelhas sem ferrão (MORANDIN *et al.*,  
388 2001; 2002; BARTELLI *et al.*, 2014a; SILVA *et al.*, 2016), o papel da abelha *M.*  
389 *quadrifasciata* na polinização do tomateiro em sistemas protegidos (HEARD, 1999;  
390 SLAA *et al.*, 2006; SILVA-NETO *et al.*, 2018), as principais hipóteses testadas foram:

391 A) Uma vez que existem evidências de que a redução da luz UV e verde  
392 podem afetar a orientação fototática da abelha *Apis mellifera*, e que esta condição  
393 associada a temperaturas elevadas parecem prejudicar a aclimatação das abelhas  
394 em estufas, espera-se que, em condições experimentais controladas, a redução da  
395 incidência de luz nestes comprimentos de onda, e o aumento da temperatura  
396 também afetarão negativamente a fototaxia, a aclimatação, e a atividade de  
397 forrageamento das espécies de abelhas sem ferrão;

398 B) Com base em observações preliminares de campo e possíveis variações  
399 intraespecíficas de atributos florais entre cultivares, a visitação da abelha  
400 mandaçaia será maior em flores da cultivar Italiano cultivadas organicamente  
401 em sistemas protegidos;

402 C) Com base em observações preliminares de campo, haverá diferenças  
403 significativas entre os atributos florais das cultivares de tomateiro Cereja e  
404 Italiano cultivadas organicamente em sistemas protegidos;

405 D) Em condições adequadas de temperatura e luminosidade, a especificidade  
406 do comportamento de forrageamento da abelha mandaçaia (*buzz pollination*)



407 contribuirá para uma maior eficiência no serviço de polinização, gerando maior  
408 aumento da produtividade e qualidade dos frutos do tomateiro em sistemas  
409 protegidos quando comparado ao fluxo de ar gerado pela polinização artificial  
410 por soprador para ambas cultivares avaliadas; e

411 E) Em condições adequadas de temperatura e luminosidade, o manejo da  
412 abelha mandaçaia gerará maior lucratividade quando comparado ao uso da  
413 polinização artificial do tomateiro por soprador em sistemas protegidos.

414

## 415 1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

416

417 ANTIGNUS, Y.; BEN-YAKIR, D. Ultraviolet-absorbing barriers, an efficient  
418 integrated pest management tool to protect greenhouses from insects and virus diseases.  
419 *In: HOROWITZ, A.R.; ISHAAYA, I. (eds). Insect Pest Management: field and*  
420 *protected crops.* New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004, p.359.

421

422 AMANO, K., NEMOTO, T., HEARD, T.A. What are Stingless bees, and why and how  
423 to use them a crop pollinators? – A review. **Japan Agricultural Research Quarterly**,  
424 v. 34, n.3, 2000, p.183-190.

425

426 ÁVILA, A.C. *et al.* **A cultura do tomate.** 2022. Disponível em:  
427 <https://www.embrapa.br/hortalicas/tomate-de-mesa/cultivares2>

428

429 BAPTISTELLA, A. R. T. **Uso e eficiência de abelhas sem ferrão (Apidae,**  
430 **Meliponini) na polinização do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.**  
431 **Solanaceae) sob cultivo protegido.** Tese de doutorado. Ribeirão Preto, 2013, 147p.

432

433 BARTELLI, B.F.; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. Colony performance of *Melipona*  
434 *quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a Green-house of *Lycopersicon*  
435 *esculentum* (Solanaceae). **Sociobiology**, v. 61, n.1, 2014a, p.60-67.

436

437 BARTELLI, B.F.; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. Pollination services provided by  
438 *Melipona quadrifasciata* Lepelletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses with  
439 *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). **Sociobiology**, v. 61, n.4, 2014b, p.510-516.

440

441 BEN-YAKIR, D.; FERERES, A. The effects of UV radiation on arthropods: a review of  
442 recent publications (2010-2015). **Acta Horticulturae**, v. 1134, 2016, p.335-342.

443

444 BERTHOLF, L.M. The distribution of stimulative efficiency in the ultra-violet  
445 spectrum for the honeybee. **Journal of Agricultural Research**, v. 43, n.8, 1931, p.703-  
446 713

447

448 BISPO DOS SANTOS, S.A.B., *et al.* Pollination of tomatoes by the stingless bee  
449 *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae).  
450 **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n.2, 2009, p.751-757.

451

452 BPBES, **Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de**  
453 **Alimentos no Brasil.** 1. ed. São Carlos, SP: Editora Cubo, 2019, 184 p.  
454 <http://doi.org/10.4322/978-85-60064-83-0>

455

456 BOMFIM, I.G.A., *et al.* Adaptive and foraging behaviour of two stingless bee species  
457 (Apidae: Meliponini) in greenhouse mini watermelon pollination. **Sociobiology**, v. 61,  
458 n.4, 2014, p.502-509.

459

460 CALVETE, E.O. *et al.* Polinização de morangueiro por *Apis mellifera* em ambiente  
461 protegido. **Ver. Bras. Frutic**, v. 32, n.1, 2010, p.181-188.

462

- 463 CHANG, J. *et al.* Does growing vegetables in planstvic greenhouses enhance regional  
464 ecosystem services beyond the food supply? **Frontiers in Ecology and the**  
465 **Environment**, v. 11, 2013, p.43-49.
- 466  
467 COBAPLA - COMITÊ BRASILEIRO DE DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO  
468 DE PLÁSTICOS NA AGRICULTURA. **Desafios da Plasticultura no Brasil**. 2022. In:  
469 [http://cobapla.com.br/wp-content/uploads/2022/06/1-Plasticultura-no-Brasil-tecnologia-](http://cobapla.com.br/wp-content/uploads/2022/06/1-Plasticultura-no-Brasil-tecnologia-de-monitoramento-2022.pdf)  
470 [de-monitoramento-2022.pdf](http://cobapla.com.br/wp-content/uploads/2022/06/1-Plasticultura-no-Brasil-tecnologia-de-monitoramento-2022.pdf)  
471
- 472 COOLEY, H.; VALLEJO-MARÍN, M. Buzz-Pollinated Crops: A Global Review and  
473 Meta-analysis of the Effects of Supplemental Bee Pollination in Tomato. **Journal of**  
474 **Economic Entomology**, v. 114, 2021, p. 505-519.
- 475  
476 COSTANZA, R. *et al.* The value of the world's ecosystem services and natural capital.  
477 **Nature**, v. 387, 1997, p.253–260.
- 478  
479 CRUZ, D.O. *et al.* Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona*  
480 *subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26,  
481 n.3, 2004, p.293-298.
- 482  
483 CRUZ, D.O. *et al.* Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on  
484 greenhouse sweet pepper. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n.12, 2005,  
485 p.1197-1201.
- 486  
487 CRUZ, D.O.; CAMPOS, L.A.O. Polinização por abelhas em cultivos protegidos.  
488 **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 4, n.1, 2009, p.5-10.
- 489  
490 COSTA, M.B.B., *et al.* Agroecology development in Brazil between 1970 and 2015.  
491 **Agroecology and Sustainable Food Systems**, v. 41, 2017, p.276-295.
- 492  
493 DAINESE, M. *et al.* A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop  
494 production. **Science Advances**, v. 5, 2019, p.1-13.
- 495  
496 DEL SARTO, M.C.L. *et al.* Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona*  
497 *quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal**  
498 **of Economic Entomology**, v. 98, n.2, 2005, p.260-266.
- 499  
500 DYER, A.G.; CHITTKA, L. Bumblebee search time without ultraviolet light. **The**  
501 **Journal of Experimental Biology**, v. 207, 2004, p.1683-1688.
- 502  
503 GAGLIANONE, M.C., *et al.* **Plano de manejo para os polinizadores do tomateiro**.  
504 Rio de Janeiro: Funbio, 2015, pp. 48.
- 505  
506 GIURFA, M., *et al.* Detection of coloured stimuli by honeybees: minimum visual  
507 angles and receptor specific contrasts. **J. Comp. Physiol. A**, v. 178, n.5, 1996, p.699-  
508 709. <https://doi.org/10.1007/BF00227381>  
509

- 510 FERNANDES, N.S., *et al.* Volatile Organic compounds role in selective pollinator  
511 visits to comercial melon types. **Journal of agricultural Science**, v. 11, 2019, p.93-  
512 108.
- 513
- 514 FONTES, E.M.G., *et al.* **Metodologia de seleção de abelhas sem ferrão para**  
515 **polinização em cultivos protegidos**. Documento 354, Empresa Recursos Genéticos e  
516 Biotecnologia, Brasília, DF. 2016, p. 1-16.
- 517
- 518 GARIBALDI, L.A., *et al.* Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield  
519 outcomes in small and large farms. **Science**, v. 351, 2016, p.389-391.
- 520
- 521 GARIBALDI, L.A., *et al.* From research to action: enhancing crop yield through wild  
522 pollinators. **Frontiers in Ecology and Environment**, v. 12, 2014, p.439-447.
- 523
- 524 GIANNINI, T.C., *et al.* The dependence of crops for pollinators and the economic value  
525 of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, 2015, p.849-857.
- 526
- 527 GONÇALVES, F.C.M. **Tomate orgânico: como ter alta produtividade e qualidade?**  
528 2022. Disponível em: [https://revistacampoenegocios.com.br/tomate-organico-como-ter-](https://revistacampoenegocios.com.br/tomate-organico-como-ter-alta-produtividade-e-qualidade/#:~:text=As%20lavouras%20de%20tomate%20org%C3%A2nico,tanto%20em%20produ%C3%A7%C3%A3o%20quanto%20consumo)  
529 [alta-produtividade-e-](https://revistacampoenegocios.com.br/tomate-organico-como-ter-alta-produtividade-e-qualidade/#:~:text=As%20lavouras%20de%20tomate%20org%C3%A2nico,tanto%20em%20produ%C3%A7%C3%A3o%20quanto%20consumo)  
530 [qualidade/#:~:text=As%20lavouras%20de%20tomate%20org%C3%A2nico,tanto%20em%20produ%C3%A7%C3%A3o%20quanto%20consumo](https://revistacampoenegocios.com.br/tomate-organico-como-ter-alta-produtividade-e-qualidade/#:~:text=As%20lavouras%20de%20tomate%20org%C3%A2nico,tanto%20em%20produ%C3%A7%C3%A3o%20quanto%20consumo)
- 531
- 532
- 533 GREENLEAF, S.S.; WILLIAMS, N.M.; WINFREE, R.; KREMEN, C. Bee foraging  
534 ranges and their relationship to body size. **Oecologia**, v. 153, 2007, p. 589-596.
- 535
- 536 HEARD, T.A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of**  
537 **Entomology**, v. 44, 1999, p.183-206.
- 538
- 539 HORTH, L. Supplementing small farms with native mason bees increases strawberry  
540 size and growth rate. **Journal of Applied Ecology**, 2017, p. 1-9.
- 541
- 542 IFOAM. **The Four principles of Organic Agriculture**. 2022. Disponível em:  
543 <https://www.ifoam.bio/why-organic/shaping-agriculture/four-principles-organic>
- 544
- 545 IPBES. Summary for policymakers of the assessment report of the Intergovernmental  
546 Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators,  
547 pollination and food production. *In*: POTTS, S.G. *et al.* (Eds.). **Secretariat of the**  
548 **Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem**  
549 **Services**. Germany: Bonn, 2016, pp. 36.
- 550
- 551 JAMES, R.R.; PITTS-SINGER, T.L. **Bee pollination in Agricultural Ecosystems**.  
552 New York: Oxford University Press, 2008, pp. 247.
- 553
- 554 KAISER, W.; SEIDL, R.; VOLLMAR, J. The participation of all three colour receptors  
555 in the phototactic behaviour of fixed walking honeybees. **J. Comp. Physiol**, v. 122, n.1,  
556 1977, p.27-44. <https://doi.org/10.1007/BF00611246>
- 557

- 558 KEVAN, P. Floral colors through the insect eye: what they are and what they mean. *In*:  
559 EUGENE, C.; JOHN LITTLE, R. (Eds). **The Handbook of experimental pollination**  
560 **biology**. EUA: Scientific and Academic Editions, 1983.  
561
- 562 KLATT, B.K. *et al.* Flower volatiles, crop varieties and bee responses. **PLoS ONE**, v.  
563 8, n.8, 2013, p. e72724  
564
- 565 KOHATSU, D. **Ótica Física**: Teoria, experimentos e aplicações. Olhos e visão  
566 comparadas. São Paulo: Instituto de Física – USP, 2016, pp.1-3.  
567
- 568 KOVÁCS-HOSTYÁNSZKI, A., *et al.* Ecological intensification to mitigate impacts of  
569 conventional intensive land use on pollinators and pollination. **Ecology Letters**, 2017,  
570 p. 1-17.  
571
- 572 KREMEN C.; MILES, A. Ecosystem Services in biologically diversified versus  
573 Conventional Farming Systems: Benefits, Externalities, and Trade-offs. **Ecology and**  
574 **Society**, v. 17, 2012, p. 1-25.  
575
- 576 LABHART, T. Behavioral analysis of light intensity discrimination and spectral  
577 sensitivity in the honey bee, *Apis mellifera*. **J. Comp. Physiol.**, v. 95, n.3, 1974, p.203-  
578 216. <https://doi.org/10.1007/BF00625444>  
579
- 580 LAND, M.F. Visual acuity in insects. **Annu Rev Entomol**, v. 42, 1997, p.147–177  
581
- 582 LLORENS, L. *et al.* The role of UV-B radiation in plant sexual reproduction.  
583 **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 17, 2015, p.243-254.  
584
- 585 MALAGODI-BRAGA, K. S. **Estudo de agentes polinizadores em cultura de**  
586 **morango (*Fragaria x ananassa* Duchesne – Rosaceae)**. Tese de doutorado, 2002, pp.  
587 110.  
588
- 589 MALAGODI-BRAGA, K.S.; KLEINERT, A.M.P. Could *Tetragonisca angustula*  
590 Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses?  
591 **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, 2004, p.771-773.  
592
- 593 MENZEL, R.; GREGGERS, U. Natural phototaxis and its relationship to colour vision  
594 in honeybees. **J. Comp. Physiol. A.**, v. 157, n.3, 1985, p.311-321.  
595 <https://doi.org/10.1007/BF00618121>  
596
- 597 MEYRELLES, B.G. **Polinização do tomate cereja por abelhas nativas em cultivo**  
598 **protegido**. Dissertação de mestrado, 2013, pp. 46.  
599
- 600 MICHENER, C.D. The Meliponini. p. 3-18. *In*: VIT, P.; SILVIA, R.M.P; ROUBIK, D.  
601 (Eds.). **Pot honey**: A legacy of stingless bees. New York, USA: Springer, 2013, pp.  
602 654.  
603
- 604 MILFONT, M. de O., *et al.* Higher soybean production using honeybee and wild  
605 pollinators, a sustainable alternative to pesticide and autopollination. **Environmental**  
606 **Chem. Letters**, v. 11, 2013, p.335-341.  
607

- 608 MORAES, M.C.M. **Uso de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae: Meliponini)**  
609 **na polinização do tomate cereja cultivado em casa de vegetação.** Dissertação de  
610 mestrado. Universidade Federal de Viçosa, MG. 2014, 49.p.  
611
- 612 MORAES-MOURA, M.C., *et al.* The use of diferente stingless bee species to pollinate  
613 cherry tomatoes under protected cultivation. **Sociobiology**, v. 68, n.1, 2021, p.1-9.  
614
- 615 MORANDIN, L. A., *et al.* Effect of bumblebee (Hymenoptera: Apidae) pollination  
616 intensity on the quality of greenhouse tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, v.  
617 94, n.1, 2001b, p.172–179.  
618
- 619 MORANDIN, *et al.* Effect of greenhouse polyethylene covering on activity level and  
620 photo-response of bumble bees. **The Canadian Entomologist**, v. 134, 2002, p.539-549.  
621
- 622 MORSE, A., *et al.* The impact of greenhouse tomato (Solanales: Solanaceae) floral  
623 volatiles on bumblebee (Hymenoptera: Apidae) pollination. **Environmental**  
624 **Entomology**, v. 41, n.4, 2012, p.855-864.  
625
- 626 NASCIMENTO, W.M., *et al.* Utilização de agentes polinizadores na produção de  
627 sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, v.  
628 30, 2012, p.494-498.  
629
- 630 NETO, A.V. *et al.* **Desafios e recomendações para o manejo e transporte de**  
631 **polinizadores.** São Paulo: A.B.E.L.H.A, 2018.
- 632
- 633 NICODEMO, D., *et al.* Improved pollination efficiency and reduced honey bee colony  
634 decline in greenhouses by allowing access to the outside during part of the day.  
635 **Sociobiology**, v. 65, n.4, 2018, p.714-721.  
636
- 637 NOUVIAN, M.; GALIZIA, C.G. Complexity and plasticity in honey bee phototactic  
638 behaviour. **Scientific reports**, v. 10, n.1, 2020, p.1-15. [https://doi.org/10.1038/s41598-](https://doi.org/10.1038/s41598-020-64782-y)  
639 [020-64782-y](https://doi.org/10.1038/s41598-020-64782-y)  
640
- 641 NUNES-SILVA, P., *et al.* Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators  
642 of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. **Apidologie**, v. 44, 2013, p.537-546.  
643
- 644 O CHARLO, H.C.de, *et al.* Desempenho e qualidade de frutos de tomateiro em cultivo  
645 protegido com diferentes números de hastes. **Horticultura Brasileira**, v. 27, 2009,  
646 p.144-149.  
647
- 648 PARK, J.; LEE, H. Phototactic behavioural response of agricultural insects and stored-  
649 product insects to light-emitting diodes (LEDs). **Applied Biological Chemistry**, v. 60,  
650 2017, p.137-144.  
651
- 652 PEDRO, S.R.M. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae).  
653 **Sociobiology**, v. 61, n.4, 2014, p.348-354.  
654

- 655 PEITSCH, D. *et al.* The spectral input systems of hymenopteran insects and their  
656 receptor-based colour vision. **J. Comp. Physiol. A.**, v. 170, n.1, 1992, p.23-40.  
657 <https://doi.org/10.1007/BF00190398>  
658
- 659 PRB - POPULATION REFERENCE BUREAU. **2016 World population data sheet**  
660 **with a special focus on humans needs and sustainable resources.** Washington, DC,  
661 2016.  
662
- 663 RECH, A.R., *et al.* **Biologia da polinização.** Rio de Janeiro: Revisora editorial Ceres  
664 Belchior, 2014, pp. 527.  
665
- 666 ROSE-DENADAI, C.A. *et al.* Buzz-pollination in Neotropical bees: genus-dependent  
667 frequencies and lack of optimal frequency for pollen release. **Insect Science**, v. 27,  
668 2020, p.133-142.  
669
- 670 ROSELINO, A.C.; SANTOS, S.A.; BEGO, L.R. Qualidade dos frutos de pimentão  
671 (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona*  
672 *quadrifasciata anthidioides* Lepageletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob  
673 cultivo protegido. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n.2, 2010, p.154-158.  
674
- 675 ROUBIK, D.W. *et al.* The pollination of cultivated plants – A compendium for  
676 practitioners. **Food and agriculture Organization of The United Nations**, Rome, v. 2,  
677 2018.  
678
- 679 SHIMODA, M.; HONDA, K. Insect reactions to light and its applications to pest  
680 management. **Applied Entomology Zoology**, v. 48, 2013, p.413-421.  
681
- 682 SILBERGLIED, R.E. Communication in the ultraviolet. **Annual Revision of**  
683 **Ecological Systems**, v. 10, 1979, p.373-398.  
684
- 685 SILVA, C.I. *et al.* **Manejo dos polinizadores e polinização de flores do**  
686 **maracujazeiro.** São Paulo: Ministério do Meio Ambiente, 2014, pp. 64.  
687
- 688 SILVA, E.M.S., *et al.* Biologia floral do pimentão (*Capsicum annuum*) e a utilização da  
689 abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) como polinizador em cultivo protegido.  
690 **Revista Ciência Agrônômica**, v. 36, n.3, 2005, p.386-390.  
691
- 692 SILVA, J.B.C., *et al.* **Cultivo de tomate para Industrialização.** 1-2. ed. Brasília:  
693 Embrapa Hortaliças, Sistemas de Produção, 2003.  
694
- 695 SILVA, J.O. **Catálogo de insumos naturais e biológicos para uso na agropecuária:**  
696 **representantes e revendas no Distrito Federal e entorno.** Emater-DF: 2016, 40 p.  
697
- 698 SILVA, M.A., OLIVEIRA, F.A., HRNCIR, M. Efeito de diferentes tratamentos de  
699 polinização em berinjela em casa de vegetação. **Revista Verde de Agroecologia e**  
700 **Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 1, 2016, p.30-36.  
701
- 702 SILVA, M.A., *et al.* On the thermal limits for the use of stingless bees as pollinators in  
703 commercial greenhouses. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, 2017, p.81-90.  
704

- 705 SILVA-NETO, C.M. *et al.* The stingless bee mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*  
706 Lepeletier) increases the quality of greenhouse tomatoes. **Journal of Apicultural**  
707 **Research**, v. 58, 2018, p.1-6.
- 708  
709 SILVA-NETO, C.M. **Biologia reprodutiva do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.)**  
710 **e influência das abelhas na produção dos frutos**. Dissertação de mestrado, 2013.
- 711  
712 SLAA, E.J., *et al.* Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives.  
713 **Apidologie**, v. 37, 2006, p.293-315.
- 714  
715 SOWMYA, K.S.; SRIKANTH, C.D.; SUDHA, M. Bumble bees as crop pollinators.  
716 **Global Journal of Advanced Research**, v. 2, 2015, p.1-4.
- 717  
718 UN - UNITED NATIONS. **Transforming our world: The agenda for sustainable**  
719 **development**. New York: Assembleia geral das Nações Unidas, 11-12 ago. 2015.
- 720  
721 VALARINI, P.J. *et al.* **Diagnóstico da agricultura orgânica no Brasil**. São Paulo:  
722 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2005, pp. 1-23.
- 723  
724 VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral dos Produtos**  
725 **das Abelhas Sem Ferrão**. Brasília, DF: Instituto Sociedade, População e Natureza  
726 (ISPAN). 2. ed. Brasil, 2018, pp. 212.
- 727  
728 VAN DER BLOM, J. Applied entomology in Spanish greenhouse horticulture.  
729 **Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting**, v. 21, 2010, p.9-17.
- 730  
731 VICENTE, M. H., *et al.* Semi-determinate growth habit adjusts the vegetative-to-  
732 reproductive balance and increases productivity and water-use efficiency in tomato  
733 (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Plant Physiology**, v. 177, 2015, p.11–19.
- 734  
735 WESTERKAMP, C.; GOTTSBERGER, G. Diversity pays in crop pollination. **Crop**  
736 **Science**, v. 40, n.5, 2000, p. 1209-1222.
- 737  
738 WITTER, S. *et al.* Desempenho de cultivares de morango submetidas a diferentes tipos  
739 de polinização em cultivo protegido. **Pesq. Agrop. Bras.**, v. 47, n. 1, 2012, p. 58-65.
- 740  
741 ZENEON, O., *et al.* **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo:  
742 Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 1020



743 **2. CAPÍTULO 1 - INFLUENCE OF ULTRAVIOLET RADIATION AND**  
744 **TEMPERATURE ON THE PHOTOTACTIC RESPONSE OF TROPICAL**  
745 **SPECIES OF STINGLESS BEES**

746

747 *Manuscrito submetido à revista Journal of Comparative Physiology A. Formatação*  
748 *feita de acordo com as normas da revista.*

749

750 Davi de L. Ramos<sup>1 3</sup>, Theo R.P. Mota<sup>2</sup>, Mercedes M.C. Bustamante<sup>1</sup>, Carmen S.S. Pires<sup>3</sup>

751

752 1 Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brasil.  
753 Campus Universitário Darcy Ribeiro, Instituto de Biologia, Brasil.

754 2 Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo  
755 Horizonte, MG 31270-910, Av. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha, Instituto de Ciências  
756 Biológicas, Brasil.

757 3 Laboratório de Ecologia e Biossegurança, Embrapa Recursos Genéticos e  
758 Biotecnologia, Brasília, DF 70770-901, Brasil.

759

760 ORCID:

761 Davi Ramos: 0000-0003-4870-3533

762 Theo Mota: 0000-0001-9485-5410

763 Mercedes Bustamante: 0000-0003-1008-452X

764 Carmen Pires: 0000-0002-4019-022X

765

766 Corresponding author's email address: davi.ramos7@gmail.com

767

768 Key words: vision, cognitive ecology; photoreceptors; phototaxis; meliponines

769

770

771

772

773

774

775

776

## 777 2.1 ABSTRACT

778 We evaluated how ultraviolet (UV) and green light in the solar spectrum, as well as  
779 temperature, affected the proportion and latency of phototactic choice for three distinct  
780 stingless bee species within a Y-shaped maze. We showed that all studied bee species  
781 chose the edges with a higher incidence of solar UV light more often and with shorter  
782 choice latencies than other edges. Under conditions of low UV at both ends of the maze,  
783 neither a higher proportion of green nor a higher total light intensity impacted the  
784 phototactic orientation of bees towards a particular maze arm. The proportion of choice  
785 in *Frieseomelitta varia* did not change in response to an increase in temperature, and  
786 remained high with increased UV light. These results indicate that UV light was an  
787 important component of the phototactic response of the tropical bee species studied, and  
788 this should be considered when using them to provide pollination services in  
789 environments with a low incidence of UV light, as is prevalent in greenhouses.  
790 Moreover, the phototactic behaviour observed in *F. varia*, even under heat stress  
791 conditions, suggested that this species was suitable for use as pollinators in  
792 greenhouses.

793

## 794 2.2 INTRODUCTION

795 Bees have trichromatic vision, which is characterised by spectral sensitivity with  
796 absorption peaks in three regions of the light spectrum: ultraviolet (~345 nm), blue  
797 (~440 nm), and green (~540 nm). The ability of bees to perceive light signals results  
798 from the presence of specific short-wavelength (S), medium-wavelength (M), and long-  
799 wavelength (L) photoreceptors in their visual organs. (Peitsch et al. 1992). While the L  
800 receptor is involved in achromatic visual processing (e.g. intensity, motion, shape, and  
801 contrast), all three receptors are involved in colour processing (Giurfa et al. 1996).  
802 Ultraviolet (UV) light absorption by S photoreceptors in bees is associated with  
803 chromatic processing and navigation mediated by polarised light patterns (Rossel and  
804 Wehner 1986). Furthermore, S, M, and L photoreceptors are involved in phototactic  
805 behaviour (Menzel and Greggers 1985; Nouvin and Galizia 2020).  
806 Phototaxis is an innate behaviour in most insects and is characterised by attraction  
807 (positive) or aversion (negative) to light. It is known that bees have positive phototaxis  
808 and employ this mechanism to escape, navigate back to the hive, and take off from  
809 flowers (Bertholf 1931; Menzel and Greggers 1985; Nouvin and Galizia 2020). This  
810 behaviour can be modified by light intensity and wavelength, although it appears that

811 bees are mainly colour-blind (Kaiser et al. 1977; Menzel and Greggers 1985; Erber and  
812 Scheiner 2006). Nonetheless, studies on *Apis mellifera* Linnaeus (1758) (Hymenoptera,  
813 Apidae) suggest that although all types of photoreceptors can influence phototactic  
814 behaviour, their contributions may vary (Nouvian and Galizia 2020). In dark-adapted  
815 honeybees, the UV light receptor (S) seems to have the greatest contribution, followed  
816 by the green (L) and blue (M) receptors (Bertholf 1931; Labhart 1974; Kaiser et al.  
817 1977, Nouvian and Galizia 2020). However, research on this behaviour and its spectral  
818 sensitivity in other bee groups, such as stingless bees, is limited.

819 Meliponines (family Apidae, subfamily Apinae, tribe Meliponini) constitute a highly  
820 diverse group of bees, characterised by the absence of a functional sting. They are  
821 widely distributed in tropical and subtropical regions. Globally, it is estimated that there  
822 are at least 500 species, and Brazil is home to more than 300 described species  
823 (Michener 2013; Pedro 2014). These bees are known to have a role in the pollination of  
824 numerous cultivated plants, and in recent decades, they have been tested for potential  
825 use as pollinators in greenhouses (BPBES 2019). However, the covering materials used  
826 in these enclosed habitats can partially or completely block UV and other wavelengths  
827 of light that bees utilise for vision, resulting in negative impacts on foraging and  
828 pollination success. In addition, temperature increases are prevalent in these  
829 environments and can reduce the activity of these bees (Kendall et al. 2021). This effect  
830 should be greatly pronounced in tropical regions, where temperatures inside  
831 greenhouses can surpass 36°C (Silva et al. 2016).

832 In this study, we assessed the effect of reduced UV and green light, as well as an  
833 increase in temperature, on the proportion and latency of choice of tropical stingless  
834 bees in a Y-shaped dual-choice maze. We performed phototactic orientation assays on  
835 three species of stingless bees that are potential pollinators for use in protected systems:  
836 *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (1836), *Scaptotrigona* cf. *postica* Letreille (1807),  
837 and *Frieseomelitta varia* Lepeletier (1836) (Fontes et al. 2016). We investigated how  
838 filtering the sunlight in one of the arms of the maze using commercial filters that  
839 blocked UV, or both UV and green light transmittance, affected the positive phototaxis  
840 of each species. In addition, we evaluated whether and how an increase in temperature  
841 affected the phototactic orientation of *F. varia* in these dual-choice tests.

842

843

## 844 2.3 MATERIAL AND METHODS

845

### 846 **2.3.1 Study area**

847 This study was conducted between September and October 2020 in an open, completely  
848 sunlit area adjacent to the Laboratory of Biosafety and Ecology at Embrapa Genetic  
849 Resources and Biotechnology, Federal District, Brazil (15°43'50.19" S; 47°54'10.78"  
850 O). The Federal District is located in the Cerrado biome. The Köppen climate  
851 classification for the region is Aw, characterised by two well-defined seasons that occur  
852 throughout the year, one dry and the other rainy. The average temperature in the study  
853 area was 24.6°C, and the relative humidity was 53% during the experimental period.  
854 There were no precipitation events, and the average daytime length was 11 hours.

855

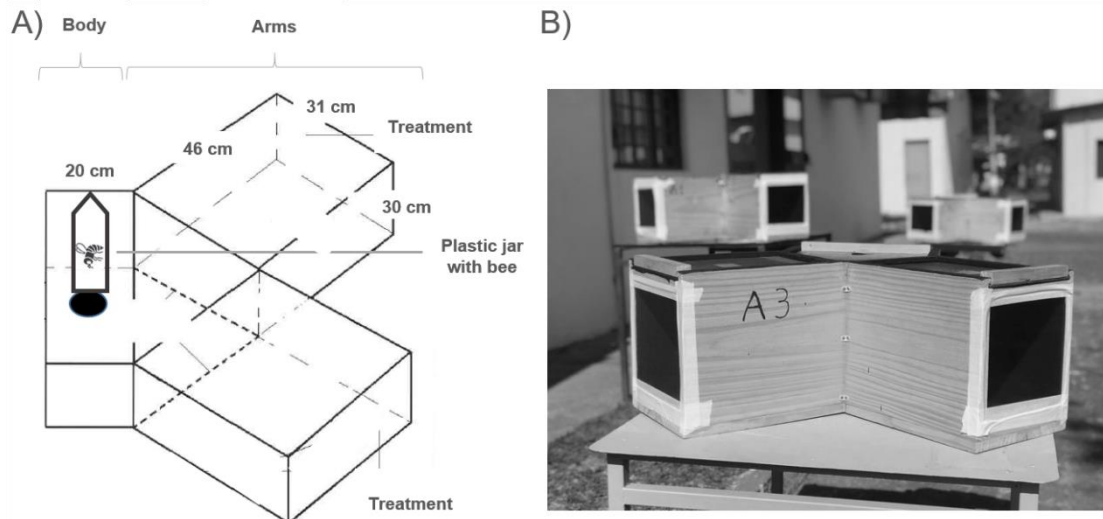
### 856 **2.3.2 Stingless bee species**

857 The tropical species *S. cf. postica*, *F. varia*, and *M. quadrifasciata* have been prioritised  
858 for greenhouse crop pollination based on certain criteria, such as colony size,  
859 geographical distribution, breeding and managing ease (Fontes et al. 2016). At least five  
860 colonies of each species were used, all of which were acquired from bee breeders who  
861 propagated these species in meliponaries and packed them into modular wooden boxes  
862 (Villas-Bôas 2018). The colonies were kept in a meliponary installed in the  
863 experimental area of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, located near a  
864 fragment of the Cerrado biome. The colonies were supplemented weekly with a sucrose  
865 solution (50%) to complement their naturally foraged diet.

866

### 867 **2.3.3 Experimental setup and visual treatments**

868 Using the model developed by Morandin and co-workers (2002), the phototactic  
869 orientation of the three described species of stingless bees was evaluated in dual-choice  
870 Y-mazes built of wood (Fig. 1A). We analysed the proportion and latency of phototactic  
871 choice in individual bees subjected to a pair of visual stimuli produced by sunlight  
872 filtered using materials of distinct transmittance in the UV (300–400 nm) and green  
873 (500–550 nm) spectral ranges. The interior surface of the Y-maze was painted with  
874 opaque black water-based paint, allowing light to only penetrate through the ends of the  
875 maze arms, where distinct visual treatments were applied (Fig. 1B).



876

877 Fig. 1. Schematic of the Y-maze (A) and image of the mazes (B) used in a dual-choice  
 878 experiment with the stingless bee species *Scaptotrigona cf. postica*, *Frieseomelitta*  
 879 *varia*, and *Melipona quadrifasciata*. Description of the mazes are as follows: Except for  
 880 the ends of the arms, the entire interior of the completely closed wooden box is painted  
 881 with black; Y-shaped body with an opening for the release of bees; Y arms with open  
 882 ends where the combination of materials to be evaluated were installed in each  
 883 experiment. These materials included 4 mm transparent glass, glass covered with film,  
 884 and plastic film that filtered different percentages of UV light. Source: Adapted from  
 885 Morandin and co-workers (2002).

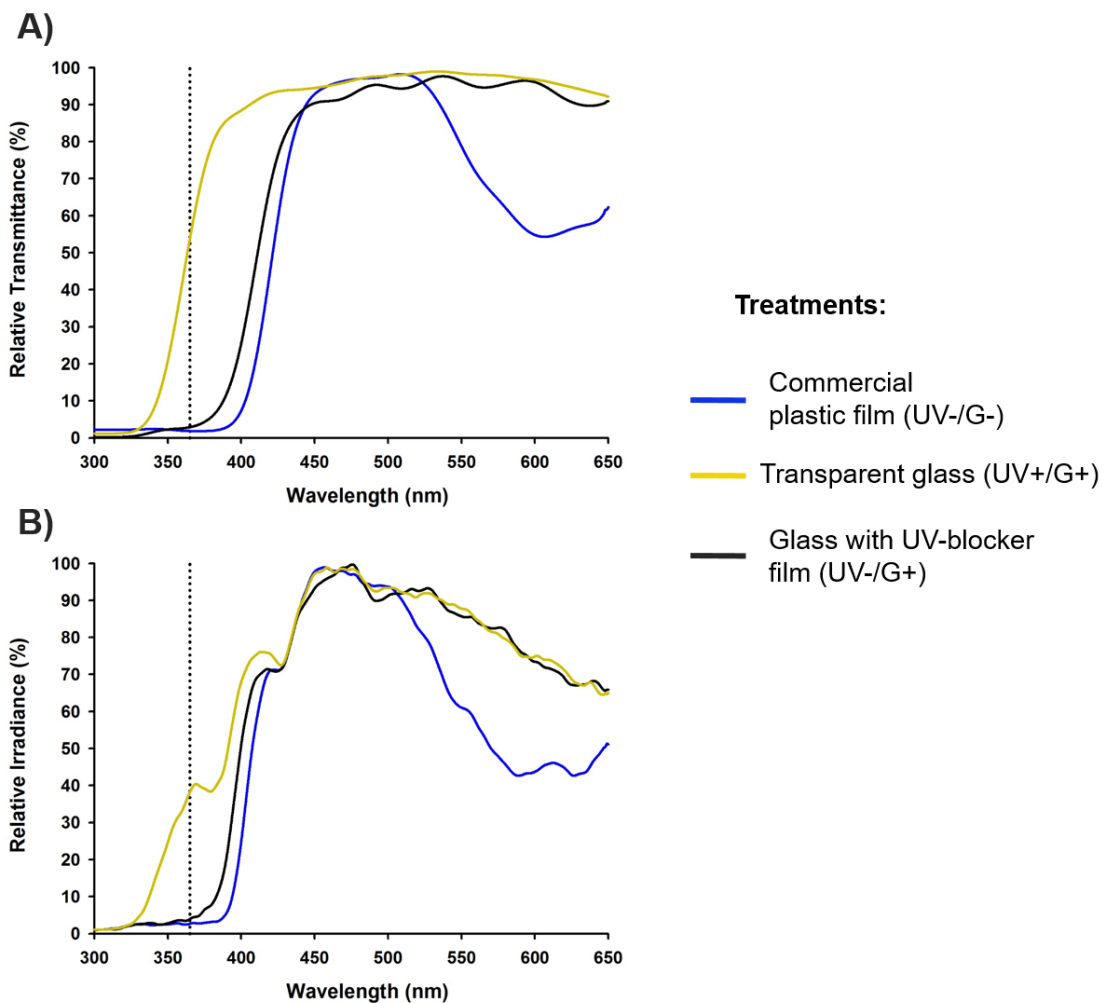
886

887

888 The visual treatments were as follows: UV+/G+ (control), 4 mm transparent glass, with  
 889 a transmittance of approximately 90% in both the UV (365 nm) and green (540 nm)  
 890 spectral range; UV-/G+, 4 mm transparent glass with UV-blocker film (LLumar SC  
 891 Clear PS4, CPFilms, USA), with a transmittance of approximately 7% in the UV and  
 892 90% in the green spectral ranges; and UV-/G-, plastic film commercially used in the  
 893 covering of greenhouses (SunCover AV Blue®, Ginegar, Israel) with very low UV  
 894 transmittance (<1%) and lower green transmittance (65%) than the other treatments  
 895 (Fig. 2A).

896

897



898

899 Fig.2. Spectral properties of the three materials tested in the dual-choice bioassays (Y-  
 900 mazes) with the stingless bee species: *Scaptotrigona cf. postica*, *Frieseomelitta varia*,  
 901 and *Melipona quadrifasciata*. The following treatments were evaluated: 4 mm clear  
 902 glass (UV+/G+ = control; red line); 4 mm clear glass with UV-blocker film (UV-/G+;  
 903 black line); and commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue (UV-/G-; blue  
 904 line). (A) Relative transmittance (%) and (B) Relative irradiance (%) of light between  
 905 300 and 650 nm of sunlight filtered by each treatment. The dashed line indicates the  
 906 transmittance (A) or relative irradiance (B) values at 365 nm, the approximate  
 907 wavelength of the UV light absorption peak measured in the short-wavelength  
 908 photoreceptors of meliponines (Peitsch et al. 1992).

909

910

911 Relative transmittance (%) of each material (treatment) between 300 and 700 nm was  
912 measured using a spectrophotometer (Flame Miniature Spectrometer, Ocean Optics,  
913 USA) connected to a sensor fiber. The incidence of light on a diffuse white standard  
914 (BaSO<sub>4</sub>) container was used for calibration. The illuminant was a xenon lamp (PX-2,  
915 220–750 nm, Ocean Optics, USA) and the angle of measurement was 90°. Spectral  
916 acquisition and analysis was performed using the software Ocean View 1.6.7 (Lite).  
917 Figure 2B depicts the relative irradiance of sunlight filtered by each treatment. While  
918 the 4 mm glass (control: UV+/G+) essentially had no effect in the bee vision range  
919 (300–650 nm), the UV-blocker film (UV-/G+) dramatically filtered UV light and was  
920 used to evaluate the effect of UV radiation on bee phototactic orientation. In addition to  
921 suppressing UV radiation, the commercial plastic film (UV-/G-) considerably filtered  
922 sunlight in the green spectral region (Fig. 2B). Thus, the bluish light emitted by this film  
923 within the maze was used to determine how the reduction of both UV and green light  
924 influenced the phototactic orientation of bees.

925 The irradiance spectrum of each visual treatment within the maze (Fig. 2B) and the  
926 mean absorption curves of the S, M, and L photoreceptors of bees (Peitch et al. 1992)  
927 were used to calculate the receptor-specific and overall photon catch values with respect  
928 to the black background (Table 1). The sum of all calculated photon catch values for the  
929 three photoreceptors (S, M, and L) represented the overall light intensity of the bee  
930 (Giurfa et al. 1997). Photon catches were normalised for both overall and receptor-  
931 specific intensities relative to the highest value obtained (Table 1).

932

#### 933 **2.3.4 Experiment 1: Effects of ultraviolet and green light on the phototactic** 934 **orientation of stingless bees**

935 The pairing of treatments with different materials produced three dual-choice  
936 behavioural assays: control vs. UV-/G+ (UV effect), control vs. UV-/G- (UV and green  
937 effect), and UV-/G+ vs. UV-/G- (green effect). Using three Y-mazes, three assays were  
938 performed concurrently for each bee species. The behavioural experiments were  
939 conducted for 8 days on *S. cf. postica*, 7 days on *M. quadrifasciata*, and 10 days on *F.*  
940 *varia*. Every day, an equivalent number of foraging bees were examined in each  
941 behavioural assay. The timing of collection and observation activities varied between  
942 species owing to their differences in foraging patterns. Starting at 06:30 am, foragers of  
943 *M. quadrifasciata* were collected from the hives, followed by *F. varia* and *S. cf. postica*

944 at 07:40 am. To ensure the independence of the observed data, individual collections of  
945 foraging bees were made immediately at the hive entrance of the three bee species using  
946 transparent plastic jars with air exchange holes measuring 4 cm in diameter and 5 cm in  
947 height. Bees were collected from a minimum of five different hives per species to limit  
948 the possibility of selection bias by using bees from the same hive.

949 After collection from the hive, the bees were placed in a shaded area and covered with  
950 black plastic to reduce the stress caused by collection. They were then individually  
951 released into the Y-maze through a 2 cm diameter hole in the roof of the maze structure  
952 (Fig. 1A). After each bee was released, the release hole was sealed to block the passage  
953 of light. Then, we observed the phototactic orientation of the flying or walking bee  
954 towards one of the two visual treatments, which were simultaneously presented at the  
955 maze arms. We only recorded the choice of the bee when the individual reached the end  
956 of a maze arm. The latency (in seconds) between release and the choice of each bee was  
957 calculated. Upon completion of the test, the bee was removed from the maze, placed in  
958 a freezer for approximately 40 s, marked on its thorax with white water-based ink, and  
959 released. In situations where bees were difficult to handle marking, they were sacrificed.

960 This procedure was implemented to prevent the re-introduction of previously tested  
961 bees, hence ensuring the integrity of the data. The interiors of the experimental mazes  
962 were cleaned daily and repainted prior to each change in species to be examined,  
963 removing any odour traces that may have been left behind from previous experiments.

964 In addition to the routine calibration of the absolute solar irradiance reaching both maze  
965 arms (see the previous subject), we conducted control tests of phototactic orientation  
966 using only 4 mm glass (control; Fig. 2) at both ends of the maze (i.e. control vs.  
967 control). These control tests were performed prior to the start of each behavioural assay,  
968 in which the bees were presented with two distinct visual treatments in order to avoid  
969 any potential orientation bias owing to chemical stimuli or any other cause other than  
970 light. If variations in light irradiance or orientation bias were detected during these  
971 control tests, we cleaned the maze, readjusted its position, and recalibrated the spectral  
972 characteristics of the visual stimuli.

973 We sampled a total of 880 bees, with 280–300 individuals per species and 80–100  
974 individuals per dual-choice behavioural assay (e.g. control vs. UV-/G+). At least 120  
975 individuals per species (n = 539) were tested in the control tests (control vs. control)  
976 before each experimental bioassay.

977



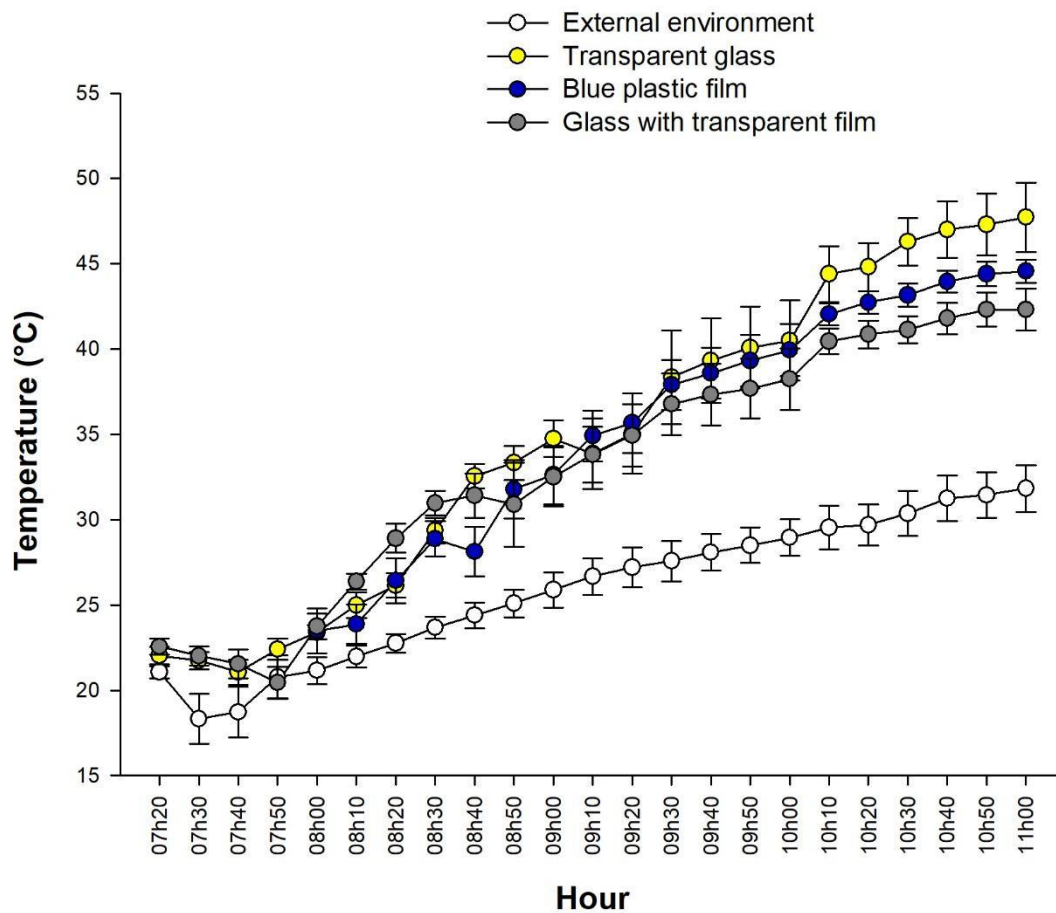
978

979 **2.3.5 Experiment 2: Effect of temperature on the phototactic orientation of**  
980 **stingless bees**

981 As the Y-mazes were directly exposed to the sun for the duration of the experiment,  
982 they heated up. Thus, we recorded the temperatures every 10 minutes from 7:20 to  
983 11:00 am using digital thermo-hygrometers (HOBO Pro v2 Temp. /RH, Sigma Sensors,  
984 Brazil) at the ends of the arms bearing the different treatments. Throughout this period,  
985 we monitored the temperature changes of the various treatments and the external  
986 environment (Fig. 3). To limit the likelihood of temperature changes influencing the  
987 phototactic orientation of the bees, we established the maximum daytime temperature  
988 for conducting experiments with each species based on the thermal tolerance of each  
989 species, as described in the literature. The maximum thermal tolerances were as follows:  
990 08:30 am for *M. quadrifasciata*, approximately 30°C (Silva 2019); 08:40 am for *F.*  
991 *varia*, up to 32.5°C (Sbordini 2015); and 09:30 am for *S. cf. postica*, approximately  
992 40°C maximum (Macieira and Proni 2004).

993 To understand whether and how temperature influences the proportion and latency of  
994 the phototactic choices of bees, we used *F. varia*. This species was the only option for  
995 this experiment, because of logistical constraints. Moreover, according to the literature,  
996 compared to *S. cf. postica*, which has a better thermal tolerance, *F. varia* has a moderate  
997 heat resistance (Macieira and Proni 2004). By contrast, *M. quadrifasciata* is more  
998 tolerant of lower temperatures than other species (Silva 2019). Behavioural assays were  
999 conducted using 323 individuals of this species exactly as described in the previous  
1000 section. Measurements were taken during two periods of the day; temperatures within  
1001 the Y-maze ranged from 31 to 42.5°C between 09:00 and 10:00 am and from 36 to 49°C  
1002 between 10:00 and 11:00 am. Before each experimental bioassay, at least 50 individuals  
1003 per period (total = 120) were subjected to control testing (control vs. control).

1004



1005

1006 Fig. 3. Average temperature values recorded in the morning hours (07:20–11:00 am) by  
 1007 a thermo-hygrometer (HOBO Pro v2 Temp./RH, Sigma Sensors, Brazil) installed  
 1008 outdoors (light ball) at the ends of the arms of the mazes with 4 mm transparent glass.  
 1009 These were installed for the following treatments: UV+/G+ (yellow ball); commercial  
 1010 plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue, UV-/G- (blue ball); and clear glass with UV-  
 1011 blocking film, UV-/G+ (grey ball). The error bars are proportional to the standard  
 1012 deviation (SD).

1013

1014

### 1015 2.3.6 Statistical analyses

1016 A chi-square ( $\chi^2$ ) test was conducted, with an expected distribution of 50:50 and a  
 1017 significance level of 95%, to determine whether the proportion of bee choice was  
 1018 different from chance. A t-test was used to assess whether the mean bee latency choice  
 1019 varied between different paired treatments. In cases of non-compliance with the

1020 assumptions, the Mann–Whitney test (W) was applied. All analyses were performed  
1021 using R software, version 4.2.1.

1022

1023

## 1024 2.4 RESULTS

1025

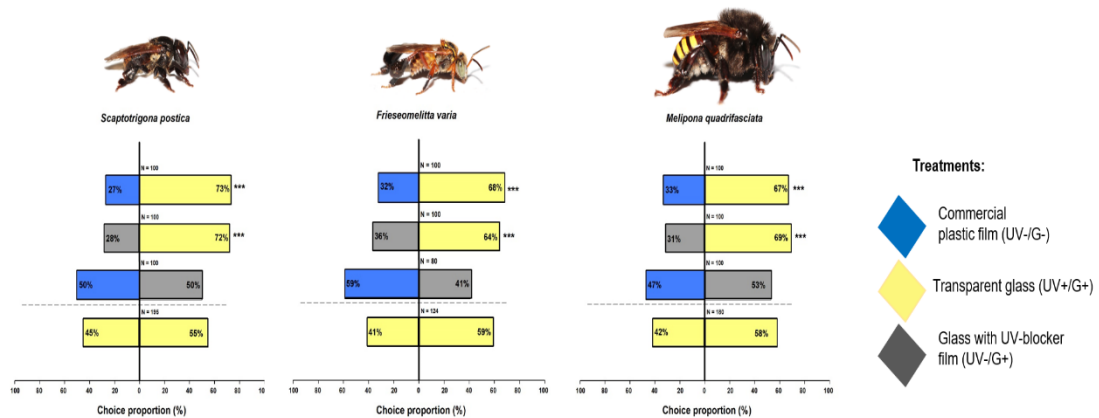
### 1026 **2.4.1 Experiment 1: Effects of ultraviolet and green light on the phototactic** 1027 **orientation of stingless bees**

1028 In behavioural assays that paired clear glass (control: UV+/G+) with a UV-blocker  
1029 (UV-/G+) or commercial plastic film (UV-/G-), independent of species, positive  
1030 phototaxis was more frequently oriented towards the side with higher UV transmittance  
1031 (i.e. control) (Fig. 4). For *S. cf. postica*, when paired with the UV-/G+ stimulus (28%)  
1032 ( $\chi^2 = 19.36$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ), 72% of the bees chose the control light, and when paired  
1033 with the UV-/G- stimulus (27%) ( $\chi^2 = 21.16$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ), 73% chose the control  
1034 light. *F. varia* foragers were similarly relatively common at the maze ends under control  
1035 light when paired with the UV-/G+ stimulus (36%) ( $\chi^2 = 7.84$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.005$ ) and  
1036 UV-/G- stimulus (32%) ( $\chi^2 = 12.96$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ) (64 and 68% for the UV-/G+ and  
1037 UV-/G- stimuli, respectively). *M. quadrifasciata* showed a preference for glass with  
1038 proportions at 69% and 67% when paired with UV-/G+ stimulus (31%) ( $\chi^2 = 14.44$ ,  $df =$   
1039  $1$ ,  $p < 0.001$ ) and UV-/G- stimulus (33%) ( $\chi^2 = 11.56$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ), respectively.  
1040 In behavioural assays comparing two treatments with very low UV transmittance but  
1041 one with lower green transmittance (UV-/G+ vs. UV-/G-) than the other, none of the  
1042 three species displayed a significant preference for one material over the other ( $p >$   
1043  $0.05$ ). Random choice of the two maze arms was also observed in control phototactic  
1044 testing with both ends of the maze covered with clear glass (control vs. control) for all  
1045 species ( $p > 0.07$ ) (Fig. 4).

1046

1047

1048

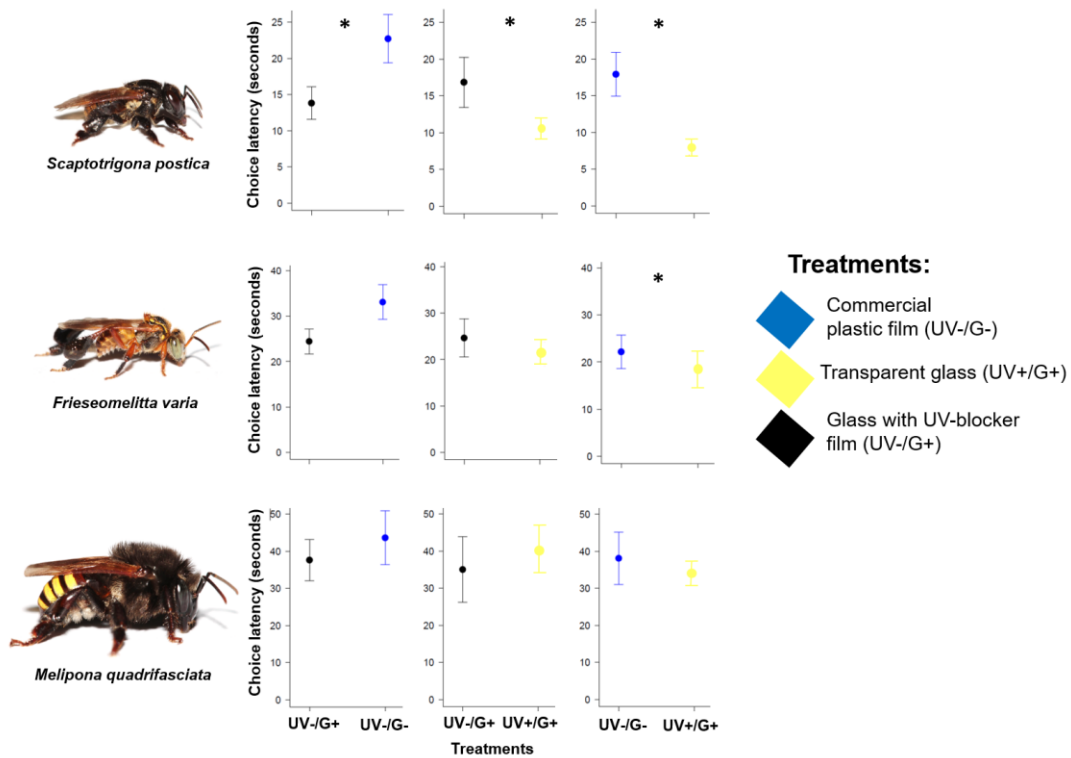


1049

Fig. 4 - The proportion of choices made by the three stingless bee species during behavioural assays in Y-shaped dual-choice mazes experiments: transparent glass (control: UV+/G+) vs. commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue (UV-/G-); glass vs. glass with UV-blocker film (UV-/G+); and glass with UV-blocking film vs. commercial plastic film. Before each round of bioassays, calibration of the mazes with the transparent glass (control vs. control) pairing was performed. A chi-square ( $\chi^2$ ) test was conducted to determine whether the proportion of bee choice was different from chance. Refer to the material and methods section for additional information. \*\*\*  $p < 0.001$

Choice latency data showed differences between treatments and species within the behavioural assays. In the UV+/G+ vs. UV-/G+ behavioural assay, the choice latency for *S. cf. postica* was significantly shorter ( $W = 1297$ ,  $p = 0.01$ ) in response to the UV+/G+ stimulus ( $10.47 \pm 1.47$  s) than the UV-/G+ stimulus ( $16.85 \pm 3.40$  s). Similarly, in the UV+/G+ vs. UV-/G- behavioural assay, *S. cf. postica* chose the UV+/G+ stimulus in  $7.97 \pm 1.04$  s on average, less than half the time it took to choose the UV-/G- stimulus ( $17.92 \pm 2.96$  s) ( $W = 1511$ ,  $p < 0.001$ ). In the UV-/G+ vs. UV-/G- behavioural assay, the mean time to choose the UV-/G+ stimulus was significantly shorter ( $13.82 \pm 2.25$  s) than that in the UV-/G- stimulus ( $22.72 \pm 3.31$  s) for this species ( $W = 815.5$ ,  $p = 0.002$ ). The choice latency of *F. varia* was similar in the UV+/G+ vs. UV+/G- ( $p = 0.05$ ) and UV-/G+ vs. UV-/G- behavioural assays ( $p = 0.29$ ). Choice latency only differed in the UV+/G+ vs. UV-/G- behavioural assay ( $W = 1418$ ,  $p = 0.007$ ), with  $17.97 \pm 3.89$  s for the UV+/G+ stimulus and  $22.18 \pm 3.55$  s for the UV-

1063 /G- stimulus. The stingless bee *M. quadrifasciata* was the only species that did not show  
 1064 differences in choice latency across treatments in any of the experiments ( $p > 0.40$ )  
 1065 (Fig. 5).  
 1066  
 1067



1068  
 1069 Fig. 5. Choice latency, in seconds, made by three stingless bee species during  
 1070 behavioural assays in Y-shaped dual-choice mazes: transparent glass (control: UV+/G+)  
 1071 vs. glass with UV-blocking film (UV-/G+); transparent glass vs. commercial plastic  
 1072 film, Ginegar - Suncover AV Blue (UV-/G-); and glass with UV-blocker film vs.  
 1073 commercial plastic film. A t-test or the Mann–Whitney test (W) (one-tailed to UV+/G+  
 1074 vs. UV-/G- UV+/G+ vs. UV-/G+ experiments and two tailed to UV-/G+ vs. UV-/G-  
 1075 experiment) was applied to assess whether the mean bee latency choice varied between  
 1076 different paired treatments. The points represent mean values and error bars, confidence  
 1077 interval. \*  $p < 0.05$ .  
 1078

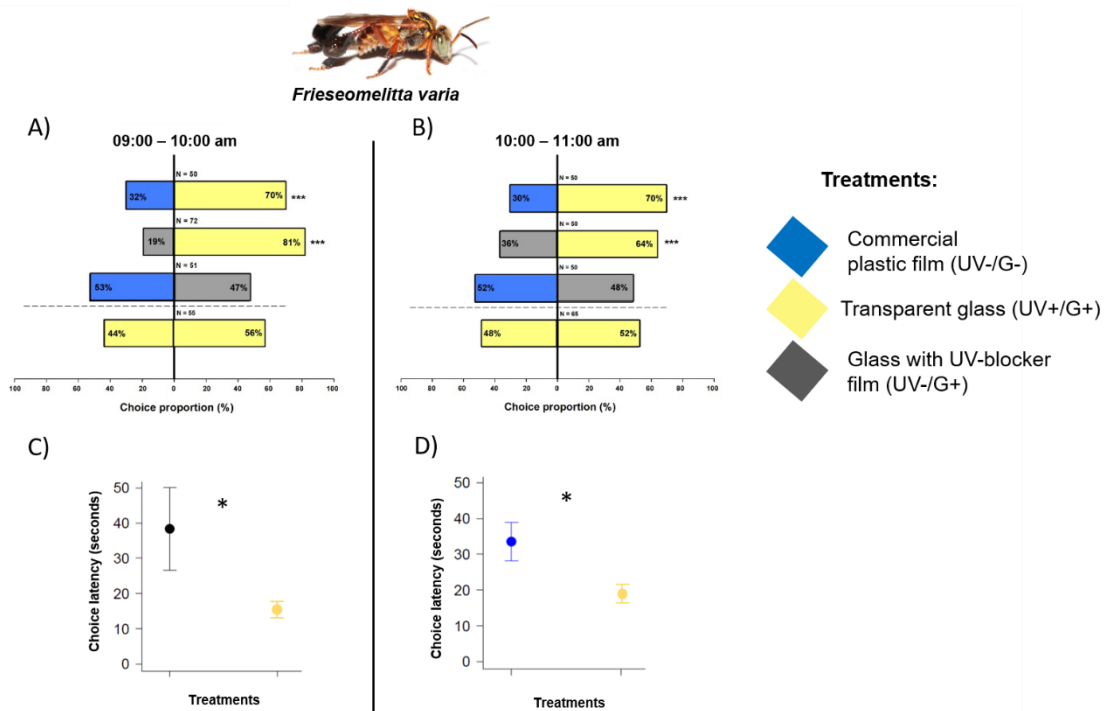
1079 **2.4.2 Experiment 2: Effect of temperature on the phototactic orientation of**  
1080 **stingless bees**

1081 The phototactic orientation of *F. varia* was unaffected by the increase in temperatures  
1082 within mazes during behavioural assays performed at different periods of the day. In the  
1083 first period, when maze temperatures ranged between 31 and 42.5°C, the bees preferred  
1084 the ends with control light (81 and 70%, respectively) when paired with UV-/G+  
1085 stimulus (19%) ( $\chi^2 = 38.44$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ) and UV-/G- stimulus (30%) ( $\chi^2 = 16$ ,  $df =$   
1086  $1$ ,  $p < 0.001$ ). However, this preference was random in the UV-/G+ vs. UV-/G-  
1087 behavioural assay ( $p = 0.54$ ) (Fig. 6A). Similarly, during the second period (10:00–11:00  
1088 am), behavioural assays with control light (UV+/G+) were selected more frequently (70  
1089 and 64%, respectively) when paired with UV-/G+ stimulus (30%) ( $\chi^2 = 16$ ,  $df = 1$ ,  $p <$   
1090  $0.001$ ) and UV-/G- stimulus (36%) ( $\chi^2 = 7.84$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.005$ ) when temperatures  
1091 ranged between 36 and 49°C. In the UV-/G+ vs. UV-/G- behavioural assay, a random  
1092 choice was observed ( $p = 0.77$ ) (Fig. 6B).

1093 Regarding choice latency, it was observed that from 09:00 to 10:00 am, the mean time  
1094 to choose in the UV+/G+ vs. UV-/G+ behavioural assay experiment was significantly  
1095 shorter for the UV+/G+ stimulus ( $15.1 \pm 2.32$  s) than that for the UV-/G+ stimulus ( $38.3$   
1096  $\pm 11.7$  s) ( $W = 623$ ,  $p = 0.001$ ). There were no significant differences in choice latency  
1097 between UV+/G+ vs. UV-/G- ( $p = 0.05$ ) and UV-/G+ vs. UV-/G- ( $p = 0.93$ ) during that  
1098 period (Fig. 6C). From 10:00 to 11:00 am, there were no significant differences within  
1099 the UV+/G+ vs. UV-/G+ behavioural assay ( $p = 0.07$ ). However, in the UV+/G+ vs.  
1100 UV-/G- behavioural assay, the UV+/G+ stimulus elicited a shorter average response  
1101 time ( $18.5 \pm 2.74$  s) compared to that by the UV-/G- stimulus ( $33.5 \pm 5.34$  s) ( $W =$   
1102  $308.5$ ,  $p = 0.006$ ) (Fig. 6D). In the UV-/G+ vs. UV-/G- behavioural assay, we did not  
1103 detect any differences in choice latency between the stimuli ( $p = 0.39$ ). A random  
1104 choice of the two maze arms was also observed in both control phototactic testing  
1105 periods (09:00–10:00 and 10:00–11:00) when the Y-maze was covered with clear glass  
1106 (control vs. control) ( $p > 0.23$ ) (Fig. 6A and B).

1107

1108



1109

1110 Fig. 6. Proportion (A and B) and choice latency (C and D) recorded during behavioural  
 1111 assays conducted in Y-shaped double-choice mazes with the stingless bee species  
 1112 *Frieseomelitta varia* in the periods 9:00-10:00 am (A and C) and 10:00-11:00 am (B  
 1113 and D). The following treatments were evaluated: transparent glass (control: UV+/G+);  
 1114 glass with UV-blocking film (UV-/G+); and commercial plastic film, Ginegar -  
 1115 Suncover AV Blue (UV-/G-). Temperature ranges inside the mazes at 09:00-10:00 am  
 1116 and 10:00-11:00 am were between 31–42.5°C and 36–49°C, respectively. Before each  
 1117 round of behavioural assays, calibration of the glass (control vs. control pairing) maze  
 1118 was performed. A chi-square ( $\chi^2$ ) test was conducted to determine whether the  
 1119 proportion of bee choice was different from chance. A t-test or the Mann–Whitney test  
 1120 (W) (one-tailed to UV+/G+ vs. UV-/G- UV+/G+ vs. UV-/G+ experiments and two  
 1121 tailed to UV-/G+ vs. UV-/G- experiment) was applied to assess whether the mean bee  
 1122 latency choice varied between different paired treatments. Refer to the material and  
 1123 methods section for additional information. The points represent mean values and error  
 1124 bars, confidence interval. \*  $p < 0.05$

1125

1126

1127

1128

## 1129 2.5 DISCUSSION

1130 In this study, the phototactic response in three tropical species of stingless bees was  
1131 examined in relation to the environmental conditions of a low incidence of UV and  
1132 green light. For *F. varia*, it was also investigated whether an increase in temperature  
1133 altered the behavioural response to the same materials with a lower incidence of UV and  
1134 green light. The results showed that the reduction of UV light influences the phototactic  
1135 response of these bees, and their function as pollinators in low-light environments, such  
1136 as greenhouses, should be further investigated. Temperature increase did not alter the  
1137 choice proportion for environments with a higher incidence of UV and green light by *F.*  
1138 *varia*. These results indicated that the phototactic behaviour of this species under  
1139 various light conditions was highly retained, even under heat stress.

1140

### 1141 **2.5.1 Modulation of phototaxis by ultraviolet and green light in stingless bees**

1142 To the best of our knowledge, the spectral sensitivity of positive phototaxis behaviour in  
1143 stingless bees species has never been studied. In our study, we observed that a greater  
1144 proportion of stingless bees preferred the maze edges with high UV irradiance (control,  
1145 4 mm clear glass) for all three species examined. Similar results were obtained by  
1146 Morandin and co-workers (2002) for *Bombus impatiens* Cresson (1863) using a dual-  
1147 choice Y-maze with commercial plastics of different UV transmittances and artificial  
1148 light sources in a laboratory setting. This orientation can be attributed to the phototactic  
1149 response in which bees are oriented towards regions of higher perceptual light intensity  
1150 when they leave or escape from a dark to a bright environment (Menzel and Greggers  
1151 1985). This positive phototactic behaviour is present in many different insects and  
1152 characterised by an innate response to move towards a natural or artificial light source  
1153 (Menzel and Greggers 1985; Shimoda and Honda 2013; Nouvin and Galizia 2020).

1154 According to studies, positive phototaxis mediates the orientation of bees when leaving  
1155 the hive, taking off for flights, and escaping (Bertholf 1931; Menzel and Greggers 1985;  
1156 Nouvin and Galizia 2020). However, its functional and physiological basis still needs to  
1157 be better understood.

1158 The attraction of bees to light appears to involve the action of S, M, and L  
1159 photoreceptors in their visual organs (Menzel and Greggers 1985; Nouvin and Galizia  
1160 2020). In virtually all bee species, these receptors have absorption peaks in the UV  
1161 (~345 nm), blue (~440 nm), and green (~540 nm) spectral ranges (Peitsch 1992).



1162 According to Menzel and Greggers (1985), the phototactic response of *A. mellifera* can  
1163 be influenced by light intensity, wavelength, and spectral composition. Although the  
1164 phototactic response occurred for light stimuli of different wavelengths, behavioural  
1165 studies with this species tested in dark usually found that UV light was more efficient in  
1166 attracting bees, followed by green light and then blue light, at similar intensities (Heintz  
1167 1959; Kaiser et al. 1977; Vieira et al. 2018; Nouvin and Galizia 2020). Moreover, the  
1168 authors reported that the intensity of the phototactic response is directly proportional to  
1169 the intensity of emitted light in this species. *Apis mellifera* exhibited a relationship  
1170 between the intensity of its phototactic reaction and the intensity of the green light in  
1171 research conducted in a dark circular maze with only green light (Erber et al. 2006). In  
1172 our study, the material with the highest total light intensity (i.e. glass) also had the  
1173 highest UV light irradiance (Table 1). Therefore, the stingless bees may have exhibited  
1174 a more frequent phototactic orientation towards the maze edge when it was presented  
1175 with this visual treatment as a result of both of these light characteristics.

1176 While UV or total light intensity may have defined the phototactic orientation towards  
1177 controlling sunlight transmitted by the clear glass (control), when pairing two materials  
1178 with equivalent low UV but distinct green (UV-/G+ vs. UV-/G-), the material with  
1179 higher green light transmittance (UV-/G+) did not attract bees more than the material  
1180 with lower green transmittance (UV-/G-). The commercial blue plastic material, which  
1181 reduces both UV and green light transmission (UV-/G-), similarly produced a lower  
1182 total light intensity (Table 1) than the UV-blocking film (UV-/G+). Even though the  
1183 blue plastic film reduced both UV and green light transmission, neither green nor total  
1184 light intensity reduction (Table 1) was sufficient to explain the less frequent orientation  
1185 of the bees towards this material. Overall, our data suggest that UV light irradiance  
1186 explains the phototactic orientation results better than total light intensity (Table 1).

1187

1188 Table 1. Proportion of absorbed photons normalised in relation to the highest value of  
1189 'photon catch' (glass light = 1) by all receptors or by each receptor individually:  
1190 ultraviolet - S (shorter-wavelength), blue - M (medium-wavelength), and green - L  
1191 (longer-wavelength). The treatments evaluated were as follows: UV+/G+ = control, 4  
1192 mm clear glass; UV-/G+ = UV blocking film, 4 mm clear glass with UV-blocker film;  
1193 and UV-/G- = commercial plastic film, Ginegar - Suncover AV Blue.

| Treatments                                | Relative quantum catch |      |      |               |
|---|------------------------|------|------|---------------|
|   | S                      | M    | L    | All receptors |
| Transparent glass (UV+/G+)                | 1                      | 1    | 1    | 1             |
| Clear glass with UV-blocker film (UV-/G+) | 0.36                   | 0.87 | 0.96 | 0.88          |
| Commercial plastic film (UV-/G-)          | 0.27                   | 0.82 | 0.78 | 0.75          |

1194

1195

1196 It was unexpected that a reduction in green light irradiance had no effect on the  
1197 phototactic orientation of the three stingless species examined in this study, as green  
1198 light intensity has been shown to modulate the effectiveness of positive phototaxis in *A.*  
1199 *mellifera* (Erber et al. 2006; Vieira et al. 2018). In an experiment testing the phototactic  
1200 orientation of *A. mellifera* in a dark Y-maze pairing green and blue light with equal  
1201 irradiance, bees oriented significantly more towards green than blue light, reaching  
1202 random choice only when the irradiance of the blue light was 2–3 times higher than that  
1203 of the green light (Vieira et al. 2018). These results suggest that photoreceptors have a  
1204 differential contribution to phototaxis in this bee species, with L receptors clearly  
1205 contributing more to green light than other receptors. Our data on the phototactic  
1206 orientation of three species of tropical stingless bees imply that photoreceptor S  
1207 (absorbing UV light) contributes more to phototaxis than photoreceptor L (absorbing  
1208 green light).

1209 Choice latency measurements showed that higher UV and total light irradiance was  
1210 responsible for the rapid phototactic choices of *S. cf. postica* and *F. varia* towards the  
1211 ends covered with clear glass. Similarly, the speed of the phototactic pathways of *A.*  
1212 *mellifera* towards a green stimulus increases with an increase in total light irradiance  
1213 (Erber et al. 2006). We found that *S. cf. postica* presented shorter choice latencies for  
1214 the treatment containing glass with UV-blocker film (UV-/G+) than that with  
1215 commercial plastic film (UV-/G-). This result shows that, in addition to UV light, green  
1216 irradiance may also contribute to the modulation of phototaxis in this species; however,  
1217 further studies employing other visual stimuli with varying levels of green irradiance  
1218 are required to corroborate this idea.

1219 In the present study, *M. quadrifasciata* was the only species that did not show  
1220 differences in the latency of choice between any combination of treatments tested, in  
1221 addition to being the slowest bee in selecting any of the treatments evaluated in the Y-  
1222 mazes. These results possibly reflect biological or physiological aspects or even the life  
1223 history of this bee species, which is adapted to living in closed forest habitats and is  
1224 widespread in biomes such as the Atlantic Forest biome and forest formations in the  
1225 Cerrado biome. Therefore, they are acclimated to orientating themselves and foraging in  
1226 shaded environments with low solar incidence (Menzel et al. 1989). From a behavioural  
1227 perspective, *M. quadrifasciata* is known to be a timid species based on personal  
1228 observations, which could explain the longer times required to choose a side of the Y-  
1229 maze.

1230

### 1231 **2.5.2 Influence of temperature on the phototaxis of stingless bees**

1232 We found that temperature increase had no effect on the proportion of *F. varia* that  
1233 chose clear glass (control: UV+/G+) over other treatments (UV-blocker film: UV-/G+;  
1234 commercial plastic: UV-/G-) and that the proportion was random in the UV-/G+ vs.  
1235 UV-/G-behavioural assay. Similarly, choice latency was lower on clear glass than on  
1236 glass with UV-blocking film or commercial plastic at both 9:00–10:00 am (31–42.5°C)  
1237 and 10:00–11:00 am (36–49°C) periods. These results indicated that the spectral  
1238 sensitivity of the phototactic response in this bee species was a behaviour that was  
1239 remarkably stable, not even changing under heat-stress conditions. In a light-  
1240 conditioning study conducted in a Y-shaped maze by Nouvian and Galizia (2020), *A.*  
1241 *mellifera* remained on the edges with UV light, even when subjected to an aversive  
1242 shock stimulus. Therefore, it appears that positive phototaxis mediated by UV light in  
1243 bees is a rigid behaviour that is not easily altered by stress or aversive conditions.  
1244 The effect of temperature on the phototactic behaviour of insects remains poorly  
1245 understood. Studies of *Drosophila melanogaster* Meigen (1830) (Markow 1978; Roedel  
1246 2016) and whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (1899) (Blackmer and Byrne 2008)  
1247 indicated a possible positive correlation between temperature and phototaxis, but these  
1248 results were inconclusive. Our study is the first to evaluate the possible influence of  
1249 temperature increases on the phototactic responses of bees. However, we cannot be  
1250 certain that the temperatures at which we subjected *F. varia* individuals were indeed  
1251 stressful for this stingless bee species. Although some studies indicated that this species

1252 had a thermal tolerance of up to 32.5°C (Sbordini 2015), it was observed that the tested  
1253 individuals responded similarly to those subjected to milder temperatures. Moreover,  
1254 hives of this species have been discovered in extremely hot environments, such as  
1255 energy boxes (personal observation), without any harm to the colony. Further studies on  
1256 the thermal tolerance and thermoregulation of this species are required to understand the  
1257 actual heat-stress conditions. Our study suggested that *F. varia* was a promising bee  
1258 species to be considered for use in protected crops because the typical heating  
1259 experienced inside greenhouses did not appear to influence its phototactic orientation.  
1260

### 1261 **2.5.3 Light, temperature, and use of stingless bees as pollinators in protected** 1262 **crops**

1263 One of the primary issues with the use of bees in greenhouses has been attributed to  
1264 their phototactic behaviour, which attracts them to ceiling and walls. This causes huge  
1265 egress through open corners, holes, or ventilation systems. This undesirable behaviour,  
1266 which hinders the introduction of bees into protected crops, is a result of the contrast  
1267 between natural sunlight and light transmitted through the covering material (Morandin  
1268 et al. 2002; Kendall et al. 2021). We discovered that all stingless bee species had a  
1269 strong attraction to sunlight with high UV irradiance, whereas a reduction in green light  
1270 had minimal effect on phototactic orientation. These results suggested that these species  
1271 might exhibit similar escape behaviour in confined environments covered with UV-  
1272 blocking materials, which will likely reduce flower visitation and pollination services.  
1273 However, partial blocking of the green region of sunlight by commercial blue plastic  
1274 did not appear to be the primary cause for the escape of bees.

1275 Considering our findings, certain measures could be taken to minimise the detrimental  
1276 effects of light filtering on the visual orientation of stingless bees in protected crops.  
1277 These measures were as follows: to avoid the use of materials that block almost or all  
1278 UV light; to conduct constant maintenance on the covering materials and control the  
1279 emergence of holes; to use covering materials that allow homogeneous dispersion of  
1280 light inside the greenhouse along its entire length; to avoid placing bee hives near a  
1281 ventilation system and to cover it with a black net if a ventilation system is present to  
1282 reduce the light contrast in relation to the rest of the greenhouse.

1283 In this study, we tested whether heat could influence the phototaxis of stingless bees.  
1284 This information is essential for the management and use of these bee species for crop

1285 pollination in high-temperature environments, such as greenhouses. In this context, the  
1286 phototactic orientation of *F. varia* remained unaffected by heat, which favours the  
1287 introduction of this species into greenhouses. Future studies should investigate the  
1288 effect of temperature on the phototaxis of other stingless bee species that could serve as  
1289 potential pollinators of protected crops. Similarly, studies evaluating the visuospatial  
1290 behaviours and pollination performances of stingless bees in protected crops under  
1291 distinct temperature or illumination conditions (covering materials) are still required to  
1292 accomplish the goal of using these bees to improve food production and quality.

1293

1294

## 1295 2.6 ACKNOWLEDGMENTS

1296 We thank Dr. Eliana Fontes for her assistance with the review of an earlier version of  
1297 the manuscript, and the undergraduate students of the Ecology and Biosafety  
1298 Laboratory: Henrique Cardoso, Lucas Borges, Raíssa Costa, Michelle Cogitskei, and  
1299 Enéas Rocha, for their support in data collection.

1300

## 1301 2.7 COMPETING INTERESTS

1302 No competing interests declared.

1303

## 1304 2.8 FUNDING

1305 This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
1306 Tecnológico (CNPq - 400555/2018-2), Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito  
1307 Federal (FAP-DF - 00193.0000054/2019-37), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e  
1308 dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) and Associação Brasileira de Estudos das  
1309 Abelhas (ABELHA). The first author is the recipient of a research scholarship at the  
1310 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em nível Superior (Capes).

1311

1312

## 1313 2.9 REFERENCES

1314 Bertholf LM (1931) The distribution of stimulative efficiency in the ultra-violet  
1315 spectrum for the honeybee. *Journal of Agricultural Research* 43(8):703-713

1316

1317 Blackmer JL, Byrne DN (1993) Environmental and physiological factors influencing  
1318 phototactic flight of *Bemisia tabaci*. *Physiological Entomology* 18:336-342.

- 1319 <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1993.tb00606.x>
- 1320
- 1321 BPBES (2019) Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de
- 1322 Alimentos no Brasil. Maíra CG (Org.). 1ª ed, São Carlos, SP: Editora Cubo.
- 1323 <http://doi.org/10.4322/978-85-60064-83-0>
- 1324
- 1325 Erber J, Hoormann J, Scheiner R (2006) Phototactic behaviour correlates with gustatory
- 1326 2714 responsiveness in honey bees (*Apis mellifera* L.). Behavioural brain research,
- 1327 174(1):174-180. 10.1016/j.bbr.2006.07.023
- 1328
- 1329 Giurfa M, Vorobyev M, Kevan P, Menzel R (1996) Detection of coloured stimuli by
- 1330 honeybees: minimum visual angles and receptor specific contrasts. J. Comp. Physiol. A
- 1331 178(5):699-709. <https://doi.org/10.1007/BF00227381>
- 1332
- 1333 Giurfa M, Vorobyev M, Brandt R, Posner B, Menzel R (1997) Discrimination of
- 1334 coloured stimuli by honeybees: alternative use of achromatic and chromatic signals. J.
- 1335 Comp. Physiol. A 180:235-243. <https://doi.org/10.1007/s003590050044>
- 1336
- 1337 Fontes EMG et al (2016) Metodologia de seleção de abelhas sem ferrão para
- 1338 polinização em cultivos protegidos. Documento 354, Empresa Recursos Genéticos e
- 1339 Biotecnologia, Brasília, DF. 1-16.
- 1340
- 1341 Heintz E (1959) La question de la sensibilité des abeilles à l'ultra-violet. Insectes
- 1342 sociaux 6(3): 223-229. <https://doi.org/10.1007/BF02224406>
- 1343
- 1344 Kaiser W, Seidl R, Vollmar J (1977) The participation of all three colour receptors in
- 1345 the phototactic behaviour of fixed walking honeybees. J. Comp. Physiol. 122(1):27-44.
- 1346 <https://doi.org/10.1007/BF00611246>
- 1347
- 1348 Kendall LK, Evans LJ, Gee M, Smith TJ, Gagic V, Lobaton JD, Hall MA, Jones J,
- 1349 Kirkland L, Saunders ME, et al (2021) The effect of protective covers on pollinator
- 1350 health and pollination service delivery. Agriculture, Ecosystems and Environment 319:1
- 1351 -15. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107556>
- 1352

- 1353 Labhart T (1974) Behavioral analysis of light intensity discrimination and spectral  
1354 sensitivity in the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol.* 95(3):203-216.  
1355 <https://doi.org/10.1007/BF00625444>  
1356
- 1357 Macieira OJD, Proni EA (2004) Capacidade de resistência a altas e baixas temperaturas  
1358 em operárias de *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae) durante os  
1359 períodos de verão e inverno. *Revista Brasileira de Zoologia* 21(4):893-896.  
1360 <https://doi.org/10.1590/S0101-81752004000400025>  
1361
- 1362 Markow AT (1978) Phototactic behavior of *Drosophila* species at different  
1363 temperatures. *The American Society of Naturalists* 6:884-892.  
1364
- 1365 Menzel R, Greggers U (1985) Natural phototaxis and its relationship to colour vision in  
1366 honeybees. *J. Comp. Physiol. A.* 157(3):311-321. <https://doi.org/10.1007/BF00618121>  
1367
- 1368 Menzel R, Ventura DF, Werner A, Joaquim LCM, Backhaus W (1989) Spectral  
1369 sensitivity of single photoreceptors and color vision in the stingless bee, *Melipona*  
1370 *quadrifasciata*. *J. Comp. Physiol. A.* 166:151-164. <https://doi.org/10.1007/BF00193460>  
1371
- 1372 Michener CD (2013) The Meliponini. In: Vit P, Silvia RMP, Roubik D (ed) *Pot honey:*  
1373 *A legacy of stingless bees*. New York, USA: Springer, pp 3-18  
1374
- 1375 Morandin L, Lavery TM, Gegear RJ, Kevan PG (2002) Effect of greenhouse  
1376 polyethylene covering on activity level and photo-response of bumble bees. *The*  
1377 *Canadian Entomologist* 134:539-549. doi: 10.4039/Ent134539-4  
1378
- 1379 Nouvian M, Galizia CG (2020) Complexity and plasticity in honey bee phototactic  
1380 behaviour. *Scientific reports* 10(1):1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64782-y>  
1381
- 1382 Pedro, SRM (2014) The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae).  
1383 *Sociobiology* 61(4):348-354. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v61i4.348-354>  
1384

- 1385 Peitsch D et al (1992) The spectral input systems of hymenopteran insects and their  
1386 receptor-based colour vision. *J. Comp. Physiol. A.* 170(1):23-40.  
1387 <https://doi.org/10.1007/BF00190398>  
1388
- 1389 Roedel A (2016) Temperature impact on phototactic behaviour in *Drosophila*  
1390 *melanogaster*. Trabalho de conclusão de curso (TCC). Universität Regensburg  
1391
- 1392 Rossel S, Wehner R (1986) Polarization vision in bees. *Nature* 323(6084):128–131.  
1393 <https://doi.org/10.1038/323128a0>  
1394
- 1395 Sbordini YSR (2015) Termoregulação em abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae,  
1396 Meliponini): produção ativa de calor e metabolismo energético. PhD thesis,  
1397 Universidade de São Paulo.  
1398
- 1399 Shimoda M, Honda K (2013) Insect reactions to light and its applications to pest  
1400 management. *Applied Entomology Zoology* 48:413-421.  
1401 <https://doi.org/10.1007/s13355-013-0219-x>  
1402
- 1403 Silva CP (2019) Influência da temperatura e umidade sobre as atividades de voo e  
1404 sobrevivência de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Apidae,  
1405 Meliponini). Dissertation, Universidade Federal de São Carlos.  
1406
- 1407 Silva MA, Oliveira FA, Hrnecir M (2016) Efeito de diferentes tratamentos de  
1408 polinização em berinjela em casa de vegetação. *Revista Verde de Agroecologia e*  
1409 *Desenvolvimento Sustentável* 11(1):30-36. <https://doi.org/10.18378/rvads.v11i1.3771>  
1410
- 1411 Slaa EJ, Chaves LAS, Malagodi-Braga KS, Hofstede FE (2006) Stingless bees in  
1412 applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie* 37:293-315.  
1413 <https://doi.org/10.1051/apido:2006022>  
1414
- 1415 Vieira AR, Salles N, Borges M, Mota T (2018) Visual discrimination transfer and  
1416 modulation by biogenic amines in honeybees. *J. exp. Biol.* 221:1-15.  
1417 <https://doi.org/10.1242/jeb.178830>  
1418



- 1419 Villas-Bôas J (2018) Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral dos Produtos das  
1420 Abelhas Sem Ferrão. Brasília, DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN).  
1421 2ed, Brasil  
1422  
1423

1424 **3. CAPÍTULO 2- EFFECT OF ULTRAVIOLET AND GREEN RADIATION**  
1425 **AND TEMPERATURE ON FLIGHT ACTIVITY AND FORAGING OF**  
1426 **THREE TROPICAL STINGLESS BEES**

1427

1428

1429 *Manuscrito submetido a revista Journal of Apicultural Research. Formatação feita de*  
1430 *acordo com as normas da revista.*

1431

1432

1433 Davi de L. Ramos<sup>1 3</sup>, Cristiano Menezes<sup>2</sup>, Mercedes M.C. Bustamante<sup>1</sup>, Carmen S.S.  
1434 Pires<sup>3</sup>

1435

1436

1437 <sup>1</sup> Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brasil.  
1438 Campus Universitário Darcy Ribeiro, Instituto de Biologia

1439

1440 <sup>2</sup> Laboratório de Entomologia e Fitopatologia, Embrapa Meio Ambiente. Rodovia  
1441 Governador Doutor Adhemar Pereira de Barros, Tanquinho Velho - Jaguariúna, SP  
1442 13918110 - Brasil

1443

1444 <sup>3</sup> Laboratório de Ecologia e Biossegurança, Embrapa Recursos Genéticos e  
1445 Biotecnologia, Brasília, DF 70770-901, Brasil.

1446

1447 Corresponding author's email address: [davi.ramos7@gmail.com](mailto:davi.ramos7@gmail.com)

1448

1449 Key words: behaviour ecology, environmental conditions, pollination; acclimatisation;  
1450 meliponines

1451

1452

1453

1454

1455

1456

1457

1458

## 1459 3.1 ABSTRACT

1460 Stingless bees (Apidae, Meliponini) comprise a group of eusocial bees with great  
1461 potential for use in green house pollination. However, low light and temperature  
1462 increases in these protected systems can compromise bee performance. This study  
1463 evaluated how the reduction of light incidence and intensity in the spectral range of  
1464 ultraviolet (~ 345 nm) and green (~ 540 nm) and temperature increases influence bee  
1465 acclimation and foraging behaviour of three tropical stingless bee species (*Melipona*  
1466 *quadrifasciata*, *Frieseomelitta varia*, and *Scaptotrigona cf. postica*) in experimental  
1467 arenas. The foraging of *M. quadrifasciata* was more frequent in the low-temperature  
1468 treatments and was not affected by UV and green light reduction. *Frieseomelitta varia*  
1469 was more active in treatments with higher incidence and light intensity in the UV and  
1470 green range. In conditions of greater thermal comfort and high luminosity, there was an  
1471 increase in the foraging activity of this species throughout the days of confinement. *S.*  
1472 *cf. postica* was the species with the greatest difficulty acclimating, even under  
1473 conditions of high light incidence and mild temperature. The environmental conditions  
1474 evaluated (*i.e.*, reduced UV and green light incidence and increased temperature)  
1475 differentially affected stingless bee species. These results reinforce the need for specific  
1476 management strategies when using tropical stingless bees as pollinators for greenhouse  
1477 crops.

1478

1479

## 1480 3.2 INTRODUCTION

1481 Several crops are migrating from open to enclosure environments, such as greenhouses.  
1482 These systems aim to reduce the stress on the crop under various environmental  
1483 conditions, promoting numerous benefits such as water and fertilizer efficient use,  
1484 insect-pests control, and reduction in the use of pesticides (Antigus & Bem-Yakir, 2004;  
1485 Shimoda & Honda, 2013). Since many of these plants grown in greenhouses benefit  
1486 from bee pollination, there have been increasing studies about managing these  
1487 beneficial insects in those systems. Since the 1960s, studies have started on *Apis* and  
1488 *Bombus* species (Kendall et al., 2021). Although much progress has been made in the  
1489 management techniques of species of these two genera, their use in greenhouses is not  
1490 always the best alternative, depending on the geographical region or specific needs of  
1491 the plants being evaluated. For example, stingless bees have been gaining importance in

1492 tropical countries as potential pollinators in these systems. Meliponines (family Apidae,  
1493 tribe Meliponini) constitute a group of approximately 500 species of eusocial bees  
1494 characterized by the absence of functional stinger and are widely distributed in tropical  
1495 and subtropical terrestrial ecosystems in the world (Michener, 2013; Pedro, 2014). In  
1496 recent decades, tests have started using them as pollinators in protected systems (Slaa et  
1497 al., 2006; BPBES, 2019; Kendall et al., 2021). However, some studies have shown  
1498 some difficulties in the acclimation and foraging activity of these bees in these  
1499 environments, such as prolonged times for leaving the nests and making the first visits  
1500 to flowers, disoriented flights, difficulty in returning to the nest after foraging, and in  
1501 more severe cases, the mass mortality of colonies (Bartelli et al., 2014, da Silva et al.,  
1502 2017). Among the environmental factors that can affect bee behaviour in these  
1503 environments are: change in the composition of the illuminant, mainly by removing  
1504 ultraviolet (UV) light from the plastic-covering materials, or even the increase in the  
1505 internal temperature (Dag, 2008; Bartelli et al., 2014; Kendal et al., 2021).

1506 The stingless bee vision is trichromatic, as in most insects, with sensitive receptors in  
1507 the ultraviolet (~ 345 nm), blue (~ 440 nm), and green (~ 540 nm) light spectrum  
1508 (Peitsch et al., 1992). While the receptor for green light (L) is involved in achromatic  
1509 visual processing (e.g., intensity, motion, shape, and contrast), all three receptors are  
1510 involved in colour processing (Giurfa et al., 1996). In particular, ultraviolet (UV) light  
1511 absorption by S photoreceptors in bees is associated with chromatic processing and  
1512 navigation mediated by the polarized light pattern (Rossel & Wehner, 1986). Moreover,  
1513 although in these insects, all receptors can act on orientation behaviour by phototaxis,  
1514 there seems to be a more significant contribution of UV light in this process (Bertholf,  
1515 1931; Labhart, 1974; Nouvian & Galizia, 2020), which suggests that this wavelength  
1516 plays an important role in bee vision. Therefore, covering materials used in greenhouses  
1517 that partially or fully filter out UV and light intensity may impact the foraging  
1518 behaviour of stingless bees, reducing pollinator performance.

1519 The temperature increase is another environmental factor common in greenhouses. Due  
1520 to low convection, the internal temperature in greenhouses typically exceeds that of the  
1521 outside environment, reducing bee activity (Bartelli et al., 2014). Such effect should be  
1522 more pronounced in tropical regions, where temperatures inside these greenhouses can  
1523 easily exceed 36°C (Silva et al., 2016). Silva and colleagues (2017) evaluated colonies'  
1524 behaviour of *Melipona subnitida* (Ducke), a stingless bee species highly adapted to  
1525 elevated temperatures in the semiarid Caatinga biome in Brazil, in greenhouses of 126

1526 m<sup>2</sup> and 4.80 m high at the top. Under extended heat stress, the authors observed severe  
1527 changes in colony behaviour within the first three days of confinement, such as  
1528 disruption of foraging and brood production. However, studies that directly evaluate the  
1529 influence of high temperatures on acclimation and foraging activity in other stingless  
1530 bee species are still scarce. In addition, since variations in transmission intensity and  
1531 wavelengths transmitted by materials can raise the internal temperature of greenhouses,  
1532 it is also essential to understand whether there are interactive effects of the  
1533 environmental conditions of confinement on the activity of this group of bees.  
1534 This study evaluated how environmental conditions related to reduced UV, and green  
1535 light incidence and intensity and increased temperature can affect the flight activity and  
1536 foraging of tropical stingless bees in a confined environment. For this, we selected three  
1537 species of stingless bees based on previous indications as potential pollinators in  
1538 protected systems: *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier, 1836), *Scaptotrigona* cf.  
1539 *postica* (Latreille, 1807), and *Friseomelitta varia* (Lepeletier, 1836) (more details in  
1540 Fontes et al., 2016).

1541

1542

### 1543 3.3 MATERIAL AND METHODS

1544

#### 1545 3.3.1 Study area

1546 This study was conducted on an open and fully sunny lawn of approximately 700 m<sup>2</sup>,  
1547 located at Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, Brasília, Federal Distric  
1548 (DF), Brazil (15°43'50.19"S; 47°54'10.78"O), between 23 November 2020, and 16  
1549 April 2021. The Federal District is located within the Cerrado biome. It has an Aw  
1550 Köppen-type climate characterised by two well-defined seasons throughout the year, a  
1551 dry season from April to September and a rainy season from October to March. The  
1552 average annual temperature is 21°C, and the average annual accumulated rainfall is  
1553 1,477 mm (Inmet, 2022).

1554

#### 1555 3.3.2 Stingless bee species evaluated

1556 Three species of tropical stingless bees were selected for this study based on criteria  
1557 established by Fontes and colleagues (2016), which describe priority species for use in

1558 pollination in protected crops, including colony size, the geographical distribution of the  
1559 species, and ease of breeding. At least four strong hives of each species were obtained  
1560 from bee breeders in the Federal District region that bred these species in meliponaries  
1561 in modular wooden boxes (Villas-Bôas, 2018). All hives were kept in a meliponary  
1562 installed in the experimental area of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology  
1563 near a fragment of the native vegetation of the Cerrado biome. The hives were fed a  
1564 solution of water and sugar (50%) weekly to complement naturally foraged food. The  
1565 following is a brief description of each species:

1566 *Scaptotrigona cf. postica*: This stingless bee species has a body size of approximately 6  
1567 mm, and the hive size ranges from 6,000 to 10,000 bees. Their hives are formed in the  
1568 hollows of the thick trees. Its geographical distribution stretches from the state of Rio  
1569 Grande do Sul to Mexico (Camargo et al., 2013). In Brazil, it is found in states in the  
1570 northeast, southeast, and central-west, such as Goiás and the Federal District. The  
1571 foragers initiate outdoor activities at temperatures close to 20°C (Engels, 1995).

1572 *Frieseomelitta varia*: This bee species has a body size of approximately 5.5 mm and  
1573 usually nests in pre-existing cavities, such as hollow tree trunks (Eltz et al., 2003).  
1574 However, it is highly adapted to living in hot and dry environments and can be found in  
1575 places exposed to the sun, such as power boxes (personal observation). It also initiates  
1576 its activities at 20°C, with peak activity during the hottest periods of the day, between  
1577 12:00–14:00 (unpublished personal data).

1578 *Melipona quadrifasciata*: This is the most robust bee of the three species used,  
1579 measuring approximately 10 mm in size. They build their hives in hollow cavities in  
1580 trees and branches but can also be found in abandoned mud nests or on the ground. The  
1581 colonies of this species have between 300 until 1500 individuals. It occurs naturally  
1582 along the Atlantic coast from Rio Grande do Sul to Pernambuco, Brazil. They are less  
1583 tolerant to very hot climates, and their peak activity occurs at mild temperatures (Guibu  
1584 & Imperatriz-Fonseca, 1984).

1585

1586

### 1587 **3.3.3 Experimental setup and treatments**

1588 This experiment aimed to evaluate how temperature increase and light reduction in the  
1589 ultraviolet and green wavelengths, common conditions in greenhouse environments, and  
1590 the association of these factors may affect the acclimation and foraging activity of the

1591 stingless bees studied. Four arenas of 5.2 m<sup>3</sup> were used (2.40 × 1.20 × 1.80 m). The  
1592 units were made of iron and were dismountable such that the front wall and ceiling  
1593 could be changed. The inner part of the wooden walls was painted with black matte  
1594 acrylic paint (Luxens, Brazil) to facilitate the visualisation of the bees during the  
1595 experiments. The outer walls were painted with white matte acrylic paint (Poliplast,  
1596 Brazil) to reduce the heat incident on the wooden walls (Fig. S1). This arena model was  
1597 developed in previous studies conducted at the Laboratory of Ecology and  
1598 Biosafety/Embrapa Genetic Resources and Biotechnology (Ramos, DL. et al., 2022,  
1599 data under publication).

1600 The following treatments were evaluated for the three bee species: UV<sup>+</sup>/T<sup>+</sup> = arena  
1601 with a high light incidence in the UV and green bands and high temperature; UV<sup>+</sup>/T<sup>-</sup>  
1602 (control) = arena with a high light incidence in the UV and green bands and temperature  
1603 suitable for bee foraging behaviour; UV<sup>-</sup>/T<sup>+</sup> = arena with reduced UV and green light  
1604 and high temperature; and UV<sup>-</sup>/T<sup>-</sup> = arena with reduced UV and green light and  
1605 temperature suitable for bee foraging behaviour. The arenas with high incidences of  
1606 light in the UV and green ranges were covered with transparent 4 mm glass with  
1607 transmittance in the UV and green light ranges at approximately 90%. The arenas with  
1608 reduced UV and green light were covered with Suncover AV Blue plastic film from  
1609 Ginegar, with a transmittance of approximately 1% of UV light and 66% of green light.  
1610 For temperature control, hot and cold air conditioners (Fujitsu) were installed in the  
1611 arenas. Therefore, in these treatments, we tested the effect of the interaction of the  
1612 reduction or increase in UV light at high temperatures or milder temperatures on the  
1613 foraging behaviour of bees.

1614

1615

### 1616 **3.3.4 Determination of temperature and time of observation of the stingless**

1617 We evaluated the activity schedule and optimal temperature range for foraging (thermal  
1618 window) of each species in a natural environment, according to the methodology  
1619 applied by Maia-Silva and colleagues (2014). Six hives of each of the three bee species  
1620 were kept in areas shaded by trees in meliponaries installed in the experimental area of  
1621 Embrapa Genetic Resources and Biotechnology were observed from 19 October to 30,  
1622 2020, from 06:00 to 18:00. Each hive was observed for five minutes at each observation  
1623 time point, and data were recorded for bees returning to the nest with pollen in the

1624 corbicula (proxy of foraging behaviour). In total, 60 h of observations per species were  
1625 recorded. Based on this data obtained, it was established that observations in the  
1626 experimental arenas would occur between 06:00–10:00 for *M. quadrifasciata*, 07:00–  
1627 11:00 for *S. cf. postica*, and between 10:00–14:00 for *F. varia*.

1628 In parallel, temperature data were recorded every hour throughout the ten days of  
1629 observation in the different environments using thermohygrometers (HOBO Pro v2  
1630 Temp. /RH, Sigma Sensors, Brazil). In addition to the data obtained from the hives in  
1631 the natural environment, information from the literature on the thermal tolerance of each  
1632 stingless bee species was obtained to determine what would be the high-temperature  
1633 range considered stressful for treatments in the experimental arenas (Macieira & Proni,  
1634 2004; Sbordini, 2015; Silva, 2019). Thus, we maintained the temperature of the  
1635 treatments with mild temperature between 23–30°C, and in the treatments with high  
1636 temperature, between 33–44°C, during the observation period of bee activity.

1637

1638

### 1639 **3.3.5 Assessment of flight and foraging activity**

1640 Artificial flowers constructed with 1.5 mL Eppendorf tubes wrapped with a rubberised  
1641 polymer called ethylene vinyl acetate (EVA) were used to evaluate the flight and  
1642 foraging behaviour in the internal environments of the arenas. The flowers were star-  
1643 shaped, green and yellow, simulating the sepals and petals of a natural flower in terms  
1644 of colouring and reflectance in the UV range (Fig. S2). A total of 28 flowers were  
1645 distributed on two Styrofoam platforms covered with adhesive paper and painted black,  
1646 positioned on a support at a height equivalent to that of the nest entrance (ca. 50 cm  
1647 from the ground). Eppendorf tubes were filled with 1.0 mL gypsum for each flower and  
1648 incubated in an oven at 40°C. After drying, the tubes were filled with a 70% sugar  
1649 solution (Fig. S3). The volume of the solution was monitored and replenished whenever  
1650 necessary. Throughout each round of observation (five days), the flowers were changed  
1651 at least three times to minimise the effect of possible odour marks left by the bees.  
1652 Artificial flowers were chosen to exclude floral traces of flowers (e.g., volatiles) that  
1653 could serve as clues to attract bees to forage. Four plastic caps 2 cm in diameter  
1654 containing pollen bran were placed on each platform to provide energy and protein food  
1655 sources. In all the treatments, water sources were offered to the bees. Water was



1656 provided in 10 cm diameter plastic Petri dishes containing wooden sticks to facilitate  
1657 the roosting of bees when searching for this resource.

1658 Three days before the beginning of the observations, the hives were installed on external  
1659 supports attached to the arenas. These were connected to the interior of the arenas  
1660 through 15 cm long wooden tubes installed at the entrance of the nests (Fig. S1). The  
1661 activity of the foragers in each treatment was monitored daily for 5 h/day, from Monday  
1662 to Friday, for 4 weeks (four rounds) interspersed between species. The observation  
1663 period for each schedule was 20 minutes per arena for all species. To reduce the stress  
1664 on the hives used in the experiments, the hives of each species were rotated after each  
1665 round so that the same hive passed through all treatments. The interval between  
1666 observation rounds for the same species was at least 15 days.

1667 The behaviours recorded during the observations were subdivided into those that  
1668 represented acclimation of the bees to the environment: (1) number of exits, (2) returns  
1669 to the hive, (3) number of dead bees, and those more directly associated with foraging  
1670 activity, and (4) number of visits to artificial flowers and pollen pots. Mortality data  
1671 were collected twice daily during the first and last observation hours. The mortality of  
1672 the first hour refers to individuals who died outside the observation period of the  
1673 experiment and, therefore, were not included in the analyses. We considered landing on  
1674 the flower or pot containing the pollen bran, without necessarily consuming or  
1675 collecting the resource, as foraging. In addition to the effect of treatments, we also  
1676 evaluated how these parameters could change over the days of confinement and  
1677 observation hours (for the observations of entry, return to the hive, and visit to  
1678 resources) since the temperature inside the arenas tended to increase throughout the day.

1679

1680

### 1681 **3.3.6 Environmental data**

1682 Irradiance data in the UV light range, temperature, and humidity inside the arenas  
1683 during the experimental periods were obtained to characterise the environmental  
1684 conditions inside the arenas and compare the variations in the different treatments at  
1685 high and mild temperatures. Using a specific radiometer for UV light (Cole-Parmer  
1686 Standard Radiometer, Chicago, USA), the absolute irradiance of the sunlight ( $\text{mW}/\text{cm}^2$ )  
1687 inside each arena was recorded at 365 nm. The measurements were performed daily  
1688 during the first and last observation hours and varied according to the species evaluated.

1689 The apparatus was positioned in the centre of the arenas, at 70 cm from the ground,  
1690 supported on a wooden bench. Three measurements were taken at each interval to  
1691 minimise variations resulting from cloudiness variation. A thermohygrometer (HOBO  
1692 Pro v2 Temp. /RH, Sigma Sensors, Brazil) was installed in the upper and inner parts of  
1693 each arena; temperature and relative humidity measurements were captured every hour  
1694 by the device and stored in a database. At the end of each experimental period, the  
1695 information was exported to a spreadsheet.

1696

1697

### 1698 **3.3.7 Statistical Analyses**

1699 Nonlinear regression analyses (Gaussian peak model) were applied to evaluate the  
1700 thermal window (temperature range in which 90% of foraging activity occurs) of each  
1701 species in the natural environment. Temperature was considered an independent  
1702 variable, and the percentage of foragers returning to the nest with pollen was the  
1703 dependent variable. These analyses were performed using the SigmaPlot 10.0/SigmaStat  
1704 3.5 software (Systat Software Inc., USA).

1705 The data of absolute irradiance in the ultraviolet range (365 nm) and temperature  
1706 measured inside the arenas during the experimental periods were analysed. The mean  
1707 irradiance values were obtained in the first and last hours of each observation day,  
1708 whereas temperature data were recorded throughout all observation hours for each  
1709 species. Thus, to evaluate the effect of treatments and observation period on these  
1710 environmental variables, generalised linear models (GLM, quasi-Poisson distribution)  
1711 were applied using the "lme4" package (Bates, et al., 2015). In all cases, the models  
1712 were compared with the null model using the drop1 function and chi-squared statistical  
1713 test or F-test. Model residuals checks were performed using the "modelvalidation"  
1714 package (Gawryszewski, 2022). For multiple comparisons between the levels of a  
1715 variable, the package "multcomp" (Holthorn, 2022) was used.

1716 Generalised linear models (GLM, Poisson distribution) were applied to evaluate the  
1717 effect of treatments on the acclimation (entry, hive return, and mortality) and foraging  
1718 activity (number of visits) of bees. Therefore, the number of entries and returns to the  
1719 hive, number of dead bees, and visits to flowers or pollen pots were considered  
1720 dependent variables, and the treatments, day of confinement, time of observation, or the  
1721 interaction between treatment and these variables were considered independent

1722 variables. In cases of data overdispersion or failure of adjustment from the residual  
1723 analysis, a quasi-Poisson or negative binomial distribution was used. The same analysis  
1724 procedures were adopted for the models related to the environmental variables  
1725 mentioned above. All analyses were performed using R software version 4.2.1.

1726

1727

## 1728 3.4 RESULTS

1729

### 1730 **3.4.1 Evaluation of the temperature and UV light irradiance conditions inside the** 1731 **experimental arenas**

1732 The mean temperature values in the arenas varied between treatments and observation  
1733 times. In *M. quadrifasciata*, the mean temperature increased as a function of the time of  
1734 day in all treatments ( $p < 0.001$ ; Fig. 1A). The mean values were  $34.78 \pm 0.42$  °C  
1735 (UV+/T+ = glass cover) and  $34.28 \pm 0.35$  °C (UV-/T+ = covered with Ginegar's Sun  
1736 Cover AV Blue plastic film) in treatments with elevated temperature and did not differ  
1737 ( $p = 0.98$ ). However, they differed from treatments UV+/T- (control, with glass cover)  
1738 and UV-/T- (plastic film cover), both with mild temperature ( $p < 0.001$ ), which had  
1739 mean temperature values of  $23.68 \pm 0.29$  °C and  $22.80 \pm 0.24$  °C and did not differ from  
1740 each other ( $p = 0.09$ ).

1741 During observations of *S. cf. postica*, there was also an increase in temperature in all  
1742 treatments over the observation period ( $p < 0.001$ , Fig. 1C). The treatments with high  
1743 temperature did not differ ( $p = 0.43$ ), with mean temperature values of  $35.30 \pm 0.46$  °C  
1744 (UV+/T+) and  $33.55 \pm 0.33$  °C (UV-/T+), but were significantly higher ( $p < 0.001$ )  
1745 than treatments UV+/T- ( $25.91 \pm 0.31$  °C) and UV-/T- ( $25.10 \pm 0.27$  °C), which did  
1746 not differ from each other ( $p = 0.31$ ).

1747 Finally, in *F. varia*, a decrease in temperature during the hours was observed in all  
1748 treatments ( $p < 0.001$ , Fig. 1E). The mean temperature values in the UV+/T+ and  
1749 UV-/T+ were  $40.85 \pm 0.39$  °C and  $38.87 \pm 0.40$  °C, respectively, differing among  
1750 themselves and among the other treatments ( $p < 0.001$ ). Treatments UV+/T- and  
1751 UV-/T- showed mean temperature values of  $28.90 \pm 0.21$  °C and  $29.27 \pm 0.25$  °C,  
1752 respectively, not differing from each other ( $p = 0.80$ ) (more information on model  
1753 estimates is provided in Table S1).

1754 The mean values of absolute irradiance in the UV range (365 nm) measured inside the  
 1755 arenas varied between treatments and day periods depending on the species assessed. In  
 1756 *M. quadrifasciata*, the mean irradiance was significantly lower in the treatments  
 1757 covered with plastic film (UV-/T+ and UV-/T-), with  $3.50 \pm 0.70$  mW/cm<sup>2</sup> and  $3.07 \pm$   
 1758  $0.64$  mW/cm<sup>2</sup>, respectively, compared to that with UV+/T+ and UV+/T- treatments  
 1759 ( $215.20 \pm 46.40$  mW/cm<sup>2</sup> and  $226.97 \pm 48.90$  mW/cm<sup>2</sup>) covered with 4 mm clear glass  
 1760 ( $p < 0.001$ ), but did not differ from each other ( $p = 0.80$ , Fig. 1B). There was also a  
 1761 significant increase in irradiance between the first and last observation times in the  
 1762 UV+/T+ and UV-/T+ groups ( $p < 0.001$ ), although they did not differ from each other  
 1763 over time. The same pattern was found for irradiance data obtained during observations  
 1764 of *S. cf. postica* (Fig. 1D), where treatments UV+/T+ and UV+/T- showed mean  
 1765 irradiance values of  $432.69 \pm 80.77$  mW/cm<sup>2</sup> and  $521.27 \pm 101.17$  mW/cm<sup>2</sup>, about  
 1766 10,000 times higher than treatments UV-/T+ and UV-/T-, with  $5.76 \pm 0.83$  mW/cm<sup>2</sup>  
 1767 and  $5.04 \pm 0.67$  mW/cm<sup>2</sup>, respectively. In *F. varia*, there were differences in the UV  
 1768 light irradiance between the treatments. In UV+/T+ and UV+/T-, treatments with glass  
 1769 cover, mean values of UV were  $595.63 \pm 61.02$  mW/cm<sup>2</sup> and  $659.22 \pm 65.93$  mW/cm<sup>2</sup>,  
 1770 compared to treatments covered with blue plastic film (UV-/T+ and UV-/T-), with  
 1771 values of  $8.02 \pm 0.86$  mW/cm<sup>2</sup> and  $7.64 \pm 0.48$  mW/cm<sup>2</sup> ( $p < 0.005$ ), but not among  
 1772 themselves ( $p > 0.68$ ) and between the two observation periods ( $p = 0.06$ ) (Fig. 1F).

1773

1774

### 1775 **3.4.2 Effects of treatments, observation period, and confinement days on** 1776 **acclimation and foraging by stingless bees**

1777 The mean number of exits and returns to the hive by *M. quadrifasciata* foraging bees  
 1778 varied among treatments according to the observation period ( $p < 0.005$ ) and  
 1779 confinement day ( $p = 0.01$ ) (Table S2). In general, we observed that the mean number  
 1780 of exits was higher in treatments UV+/T- ( $54.33 \pm 5.76$ ) and UV-/T- ( $47.41 \pm 6.12$ ),  
 1781 with high and low transmittance in the UV range, respectively, both with mild  
 1782 temperature (Table S2). However, this behaviour decreased over time, being more  
 1783 accentuated in the UV-/T+ treatment, which had low UV light transmittance and high  
 1784 temperature, having, on average, 20 to no exit records from the 4<sup>th</sup> to the 8<sup>th</sup> day of  
 1785 confinement. The only treatment that showed a trend of increasing exits of forage bees  
 1786 over time was treatment with UV-/T- (Fig. 2A). The number of exits was also

1787 influenced by the time of observation in this species, where warmer hours reduced this  
1788 behaviour, especially in the UV+/T+ and UV-/T+ treatments, both at high temperatures  
1789 (Fig. 2B). The mean number of returns to the nest by *M. quadrifasciata* varied among  
1790 treatments only as a function of the observation period, being higher in the first hours ( $p$   
1791 = 0.001) (Fig. 2C). Treatments UV+/T- and UV-/T- showed a higher mean number of  
1792 returns of  $52.19 \pm 7.08$  and  $55.77 \pm 10.11$ , followed by treatment UV+/T+, with  $31.13 \pm$   
1793  $5.91$  and UV-/T+, with  $13.93 \pm 3.10$ . Mortality in this species varied between  
1794 treatments and was independent of the day of confinement and observation period. The  
1795 highest mean number of dead individuals occurred in the UV+/T- ( $8.73 \pm 3.86$ ), not  
1796 differing only from the UV+/T+ ( $6.28 \pm 2.58$ ) ( $p = 0.97$ ). Nevertheless, mortality  
1797 decreased in all treatments over time ( $p = 0.01$ ) (Fig. 2D).

1798 There were differences in foraging activity between treatments for the different species.  
1799 In *M. quadrifasciata*, we observed that the effect of treatments on the mean number of  
1800 foraging visits varied across the observation period ( $p = 0.009$ ) but not between days of  
1801 confinement ( $p = 0.70$ ). The mean number of visits was  $38.50 \pm 4.69$  and  $38.08 \pm 4.34$   
1802 in treatments UV+/T- and UV-/T-, followed by treatments UV+/T+ ( $20.85 \pm 3.60$ ) and  
1803 UV-/T+ ( $9.43 \pm 2.20$ ). There was a reduction in visitation over time in all treatments,  
1804 but this effect was more pronounced in treatments with milder temperatures inside the  
1805 arenas (UV+/T- and UV-/T-). For example, in the UV +/T- treatment, the average  
1806 number of visits varied from approximately 80 to 40 between the first and last  
1807 observation periods, a reduction of 200% (Fig. 2E).

1808 In *Frieseomelitta varia*, the mean number of foragers leaving ( $110.45 \pm 11.57$ ) and  
1809 returning ( $102.37 \pm 10.58$ ) to the nest was higher in the treatment UV+/T- compared to  
1810 the other treatments ( $p < 0.01$ ), followed by the treatment UV+/T+ (exit =  $21.60 \pm 2.13$ ;  
1811 return =  $18.29 \pm 2.05$ ). Treatments UV-/T+ and UV-/T- had the lowest values for exit  
1812 and return to the nest and differed from each other ( $p < 0.05$ , Table S2). Both  
1813 behaviours were influenced by the days of confinement ( $p < 0.003$ ), increasing, on  
1814 average, by about 200% between the first and last day of confinement in the UV+/T-  
1815 treatment, decreasing in the UV+/T+ treatment, and no change in the other treatments  
1816 (Fig. 3A and B). The mean number of dead individuals varied among treatments ( $p <$   
1817  $0.001$ ) but not according to the day of confinement ( $p = 0.69$ ). Treatment UV+/T+ had  
1818 the highest mean number of dead individuals of this species ( $12.6 \pm 4.81$ ) and was the  
1819 only one that differed from the other treatments ( $p < 0.001$ ).

1820 The mean number of visits to resources for *F. varia* varied between treatments,  
1821 regardless of the observation period. The treatment with the highest mean number of  
1822 visits was UV+/T- ( $71.1 \pm 9.13$ ), which differed significantly from the other treatments  
1823 ( $p < 0.003$ ). This was followed by an average of  $3.85 \pm 1.17$  visits in treatment UV+/T+  
1824 and  $0.08 \pm 0.05$  in treatment UV-/T-, which did not differ from each other ( $p < 0.15$ ).  
1825 There was an increase in the number of visits over the observation days in all treatments  
1826 where this behaviour was identified ( $p = 0.007$ ), especially in the UV+/T- treatment,  
1827 with an increase of 180% between the first and last days of observation. There were no  
1828 records of visits to resources in the UV-/T+ treatment (Fig. 3C).  
1829 *Scaptotrigona cf. postica* foragers were more active (i.e., entered and exited the hive) in  
1830 the UV+/T+ treatment than in the other treatments ( $p < 0.001$ ) and increased these  
1831 behaviours in the later observation times in all treatments ( $p \leq 0.02$ ). On average, the  
1832 number of bees leaving the nest in this treatment was  $9.34 \pm 1.86$  (more details in Table  
1833 S2). Mortality data in *S. cf. postica* showed that the highest number of dead individuals  
1834 occurred in UV+/T+ ( $52.80 \pm 21.21$ ), compared to treatments UV-/T+ and UV-/T-  
1835 ( $7.75 \pm 3.70$  and  $9.90 \pm 4.71$ , respectively) ( $p \leq 0.01$ ), but did not differ from treatment  
1836 UV+/T- ( $15.10 \pm 4.39$ ). Furthermore, the mean mortality of this species did not change  
1837 over the days of confinement ( $p = 0.71$ ). It was impossible to compare the mean number  
1838 of visits to resources between treatments, as this behaviour was close to zero in all  
1839 treatments (Fig. 4, Table S2).

1840

1841

### 1842 3.5 DISCUSSION

1843 This study evaluated how environmental conditions related to lower UV and green light  
1844 incidence combined with temperature increases can affect flight activity and foraging of  
1845 three tropical stingless bee species. Our results indicated that such environmental  
1846 variables could influence the acclimation and foraging behaviours of these bees.  
1847 Differences in life history, foraging ecology, body size, and colouration are some  
1848 examples of adaptations that probably explain the differences in the behaviours of these  
1849 bee species detected in this study. This may have implications for their use and  
1850 management in protected environments.

1851

1852

1853 **3.5.1 Effects of treatments, observation period, and days of confinement on**  
1854 **acclimation and foraging activity in *Melipona quadrifasciata***

1855 Our results showed that activities related to bee acclimation (entry, hive exit, and  
1856 mortality) varied among species in the different treatments. In *M. quadrifasciata*,  
1857 foraging entry and/or exit activity decreased over time, especially in treatments with  
1858 high temperatures (~35°C). However, there was an increase in these activities over time  
1859 under conditions of greater thermal comfort (average temperatures of 23°C), even with  
1860 lower luminosity in the UV and green ranges. These results suggest that the acclimation  
1861 of this species in confined environments is more dependent on environmental factors  
1862 related to thermal conditions, as indicated in other studies (Del Sarto et al., 2005;  
1863 Bartelli et al., 2014b). In a study conducted in the region of Uberlândia, MG, Brazil,  
1864 Bartelli and colleagues (2014) found that *M. quadrifasciata* bees took more than 20  
1865 days after hive installation in a greenhouse to perform the first flight and showed a  
1866 reduction in daily foraging activity at the warmest times. After 2 months of  
1867 confinement, the bees from two of six hives installed in the greenhouses died, and  
1868 another two had to be removed from that environment to prevent deaths. The authors  
1869 concluded that this effect on hives is colony dependent but may have been aggravated  
1870 by the high temperatures inside the greenhouse since intense heat can reduce larval food  
1871 density and induce egg sinking, leading to larval death (Amano et al., 2000).  
1872 Even in other species of the genus *Melipona*, naturally adapted to higher temperatures,  
1873 there was difficulty in acclimatisation in situations of thermal stress in confined  
1874 environments. Silva and colleagues (2017) evaluated the hive exit activity of foraging  
1875 *M. subnitida* inside greenhouses of 126 m<sup>2</sup>, at 3.20 m high, installed in the semiarid  
1876 Caatinga biome in Northeast Brazil (municipality of Mossoró, RN). Although this is a  
1877 naturally occurring species in the Caatinga, drastic changes in colony behaviour were  
1878 observed in greenhouses with maximum temperature values reaching 50°C, with  
1879 interruption of nest exits from the 3<sup>rd</sup> day of confinement. Furthermore, in another study  
1880 conducted with the same species in the same biome, hives installed in a 160m<sup>2</sup>  
1881 greenhouse at 3.5m had to be removed after 14 days of confinement, given the difficulty  
1882 of acclimation (Bomfim et al., 2014). According to the authors, this behaviour is  
1883 associated with the combination of high temperatures (33.4°C) and high humidity  
1884 (97.4%), an unusual condition in the study region.

1885 Both internal factors of the hive and external factors (i.e., environmental conditions  
1886 such as temperature, humidity, and luminosity) can influence flight activity in social  
1887 bees (Guibu & Imperatriz-Fonseca, 1984; Hilario et al., 2000). Recent surveys have  
1888 indicated that environmental temperature conditions are one of the main factors  
1889 influencing the activity of these animals, particularly in confined environments (Kendall  
1890 et al., 2021). In *M. quadrifasciata*, foragers exhibit higher flight and foraging activities  
1891 in the early hours of the day and under mild temperature conditions, from 13 °C and  
1892 higher, both in natural environments (Guibu & Imperatriz-Fonseca, 1984; Hilário et al.,  
1893 2000; Oliveira-Abreu, et al., 2014) and confined environments (Del Sarto et al., 2005;  
1894 Bartelli et al., 2014), as observed in our study. Some authors suggest that this  
1895 behavioural pattern was adapted as a way to reduce competition with other floral  
1896 visitors (Bruijn & Sommeijer, 1997) and that it could be related to the body size of these  
1897 insects, where larger species fly at lower temperatures and lower light intensities than  
1898 smaller species (Pereboom & Biesmeijer, 2003; Streinzer et al., 2016).

1899 Another environmental factor that may affect the activity of bees in confined  
1900 environments is the light conditions in the ranges of greater sensitivity by these insects  
1901 (Kendall et al., 2021). Bees perceive radiation in the ultraviolet (300–400 nm), blue  
1902 (400–500 nm), and green (500–550 nm) light bands through specific photoreceptors  
1903 present in their visual organs (Peitsch et al., 1992). Such sensitivity ensures proper  
1904 orientation and navigation during flying and foraging (Giurfa et al., 1996). In our study,  
1905 however, it was found that *M. quadrifasciata* acclimated well and showed a high  
1906 frequency of visits to resources in the treatment involving mild temperature, low  
1907 incidence of UV and green light, and low intensity of total light, which could be  
1908 explained by the biology and life history of this species. In nature, this species usually  
1909 nests in closed forest environments and is widely distributed in biomes such as the  
1910 Atlantic Forest and forest formations in the Cerrado biome. Thus, foraging *M.*  
1911 *quadrifasciata* is adapted to orient themselves and search for resources in shaded  
1912 environments with low solar incidence (Menzel et al., 1989). Some studies have shown  
1913 that there seems to be a positive relationship between body size and the degree of eye  
1914 sensitivity in bees. Since larger individuals also have larger sensory organs, this  
1915 characteristic may give them a higher quality of vision in terms of spatial resolution,  
1916 light sensitivity, and the ability to detect targets (Spaethe et al., 2014; Streinzer et al.,  
1917 2016). Streinzer and colleagues (2016) studied different species of stingless bees from  
1918 the Costa Rican region and observed that the minimum light level required for flight



1919 activity was negatively correlated with the eye size of the bee species evaluated. These  
 1920 results may explain why *M. quadrifasciata*, whose genus denotes the largest body size  
 1921 bees within the Meliponini tribe, adapted well to treatment with low light incidence and  
 1922 intensity in our study.

1923 Dyer and Chittka (2004) observed that under experimental conditions, after the  
 1924 complete removal of UV light from the environment, foragers of *Bombus terrestris* L.  
 1925 (1758) were able to find flowers after a few disoriented flights. Although some studies  
 1926 on *M. quadrifasciata* in agricultural greenhouses suggest that the difficulty of foraging  
 1927 acclimation may be associated with the reduction of UV light resulting from the filters  
 1928 used in the covering materials lining these environments (Del Sarto et al., 2005; Bartelli  
 1929 et al., 2014; Silva-Neto et al., 2018), our results suggest that this factor is probably not  
 1930 limiting for acclimation and foraging activities of this species in confined environments.

1931

1932

### 1933 **3.5.2 Effect of treatments, observation period, and days of confinement on** 1934 **acclimation and foraging activity in *Frieseomelitta varia***

1935 *Frieseomelitta varia* was observed in the treatments during the hottest period of the day  
 1936 (between 10:00 and 14:00) based on its thermal window in the natural environment.

1937 There may be a relationship between body characteristics and foraging behaviour in  
 1938 stingless bees (Biesmeijer et al., 1999; Pereboom & Biesmeijer, 2003). According to the  
 1939 authors, smaller bees are less efficient at maintaining body temperature because heat  
 1940 convection is proportional to the body surface area. Moreover, bees with lighter body  
 1941 colouration tend to heat up less than dark-coloured bees. *F. varia* was evaluated as  
 1942 having a smaller body size (ca. 5.5 mm) and lighter colouration than our study's other  
 1943 bee species. These characteristics are probably related to the greater ability of this  
 1944 species to be very active during the hottest hours of the day.

1945 In *F. varia*, a higher flow of foragers leaving and returning to the hive was always  
 1946 observed in the treatment with mild temperature (mean temperature values of 28 °C)  
 1947 and high luminosity (UV+/T-). These behaviours increased throughout the confinement  
 1948 period, indicating good acclimation of this species under these conditions. In  
 1949 experiments performed with this species in greenhouses of 115.2 m<sup>2</sup> and 5.2 m high in  
 1950 the municipality of Viçosa (federal state Minas Gerais, Southeast Brazil), foragers of  
 1951 this species were also more active at the hottest times of the day, with temperatures

1952 around 30°C (Dutra, 2009). Treatment with high temperature and luminosity (UV+/T+)   
1953 had the second-highest activity. However, it reduced over time, indicating that   
1954 temperature conditions around 40°C were limiting for this species.

1955 Although preliminary studies indicate that the thermal tolerance of this species is up to   
1956 32°C (Sbordini, 2015), there are reports of this species nesting inside energy boxes that   
1957 are directly exposed to the sun in an urban area in the Federal District region (personal   
1958 observation) without damage to the colony. More studies on thermal tolerance and   
1959 thermoregulation in this species are needed to understand the real stress conditions of   
1960 these bees. Such information will be important in managing and using these bees in   
1961 environments that reach high temperatures, such as greenhouses, for crop pollination.   
1962 Another interesting result concerns the treatments with low UV and green light   
1963 irradiance and intensity (UV-/T+ and UV-/T-), which had the lowest hive entrance   
1964 and exit values, even under mild temperature conditions (~ 29°C in treatment UV-/T-).   
1965 Under natural conditions, our previous observations showed that this species was   
1966 always more active during the day, with a higher incidence of sunlight between 12:00   
1967 and 14:00. These results are in accordance with Streinzer and colleagues (2016), and   
1968 indicate that small stingless bees are more restricted by light irradiance and intensity in   
1969 the UV and green ranges. The low light intensity and irradiance in these light ranges   
1970 seem to be a more limiting factor for these bees than the temperature increase.

1971

1972

1973

1974

### 1975 **3.5.3 Effects of treatments, time of day, and days of confinement on acclimation** 1976 **and foraging activity in *Scaptotrigona cf. postica***

1977 It was observed that *S. cf. postica* foragers were more active (a higher number of   
1978 individuals leaving and entering hives) in the treatment with high temperature and high   
1979 brightness. However, higher mortality was also observed in the same treatment,   
1980 suggesting that it was difficult to acclimate to high temperatures. In a study conducted   
1981 with the same species, after heating the nests above 35°C under controlled laboratory   
1982 conditions, a value slightly above the internal temperature common in this species (~   
1983 32°C), a drastic behavioural change was observed in the workers, queen, and foragers,   
1984 which completely ceased activity (Engels, 1995). It is likely that the higher frequency of

1985 leaving and entering the nests in our study is associated with attempts to escape from  
1986 the arenas, given the phototactic behaviour in these bees, as many bees were seen  
1987 struggling against the wall and ceiling of the arenas.

1988 In stingless bees, the thermoregulation of hives can occur through the construction of  
1989 specific structures, such as the involucre (i.e., thin layers of cerumen that cover the  
1990 brood discs) or through specific behavioural responses (Domingos & Gonçalves, 2014).  
1991 Under high-temperature conditions, bees perform behaviours related to cooling, such as  
1992 ventilation promoted by wing flapping or evaporative cooling, water collection, and  
1993 subsequent distribution inside the hive (Jones & Oldroyd, 2007). Some of these  
1994 behaviours were observed in our study, even when keeping the hives outside the arenas  
1995 and protecting them from direct sun incidence through a cover with ecological tiles  
1996 (Onduline, Brazil) and a layer of palm leaf litter, indicating possible thermal stress of  
1997 the colonies. Ventilation by wing flapping was verified by noise generated inside the  
1998 nests of *S. cf. postica*, which could be heard externally. In addition, the creation of  
1999 ventilation pockets at the entrance of the nests and in gaps by worker bees was  
2000 frequently observed in all treatments.

2001 *S. cf. postica* has high thermal tolerance, as observed in the city of Londrina, Paraná  
2002 (Brazil), with temperatures between -3.5 and 40°C in summer (Macieira & Proni, 2004).  
2003 Moreover, according to Engels and colleagues (1995), this species can maintain the  
2004 internal temperature of nests around  $32 \pm 3^\circ\text{C}$  and the ideal temperature for foraging  
2005 flight is between 20 and 32°C in the state of São Paulo. In our observations, we  
2006 identified that in the environmental conditions of the Federal District, the thermal  
2007 window for this species was from 18–25°C. Although there may be variations between  
2008 regions, we maintained the treatments with mild temperature within this range, which is  
2009 considered ideal for this species' foraging. However, a very low mean number of visits  
2010 to resources was observed throughout the experiment, even in treatments with mild  
2011 temperature and high or low light ( $0.17 \pm 0.03$  and  $0.41 \pm 0.15$ , respectively). Bomfim  
2012 and colleagues (2014) observed that foraging *Scaptotrigona sp.* showed good  
2013 acclimation, with the onset of foraging activities on *Citrullus lanatus* T. (mini  
2014 watermelon) flowers after 30 h of confinement in a 160 m<sup>2</sup> and at a 3.5 m high  
2015 greenhouse, covered with anti-UV material and with average maximum temperatures of  
2016 33.4°C. *S. cf. postica* is highly selective concerning resources and has complex foraging  
2017 and recruitment processes (Cristiano Menezes, personal information). Thus, although  
2018 our results indicate that it is difficult for this species to acclimate in confined

2019 environments, further studies need to be conducted to assess the chances of success in  
2020 using these bees in environments that face differences in environmental conditions and  
2021 the type of resource available.

2022

2023

### 2024 3.6 CONCLUSIONS

2025 Two factors correlate with the success in bee management to promote increased crop  
2026 production in protected systems: the acclimation of the hives to the environmental  
2027 conditions in the green house and the efficiency of pollination behaviour by the bee to  
2028 the target plant. Our study evaluated the first factor under experimental conditions and  
2029 found that all the three tropical stingless bee species evaluated were negatively affected  
2030 by one or more environmental conditions evaluated. These results indicate that these  
2031 bees may exhibit distinct behaviours in confined environments covered with materials  
2032 blocking UV and green light and with temperature ranges that generate heat stress,  
2033 which can impact pollination services and crop production.

2034 Based on our results, farmers can adopt measures to mitigate these adverse effects  
2035 depending on the bee species to be introduced in the greenhouses. Firstly, for bee  
2036 species limited by light reduction, it is necessary to avoid the use of covering materials  
2037 that block almost or all UV light, promote constant maintenance and reduce the  
2038 accumulation of dirt on the covering materials, and prioritize the use of materials that  
2039 allow a more homogeneous light dispersion inside the greenhouse. In situations of bee  
2040 species limited by the increase in temperature, growers could invest in increasing the  
2041 height of the green house to reduce the internal temperature and even use materials on  
2042 the sides to allow more air passage inside the green house.

2043 In this study, we tested whether and how light reduction e heat could influence flight  
2044 activity and foraging of stingless bees. This information is essential for managing and  
2045 using these bee species for crop pollination in green houses. Furthermore, we hope that  
2046 our study will serve as a basis for future studies that can test the evaluated stingless bee  
2047 species in green houses of different sizes and covering materials in order to understand  
2048 their foraging behaviour under actual conditions.

2049

2050

## 2051 3.7 REFERENCES

- 2052 Amano, K., Nemoto, T., & Heard, T.A. (2000). What are Stingless Bees, and Why and  
2053 How to Use Them as Crop Pollinators? A Review. *Japan Agriculture Research*  
2054 *Quarterly*, **34**(3), 183-190.
- 2055  
2056 Antignus, Y., & Ben-Yakir, D. (2004). Ultraviolet-absorbing barriers, an Efficient  
2057 Integrated Pest Management Tool to Protect Greenhouses from Insects and Virus  
2058 Diseases. In: Horowitz, A.R. & Ishaaya, I. (Eds.), *Insect Pest Management – Field and*  
2059 *Protected Crops* (pp. 319 – 332). Springer.
- 2060  
2061 Bartelli, B.F., & Nogueira-Ferreira, F.H. (2014) Colony performance of *Melipona*  
2062 *quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a greenhouse of *Lycopersicon esculentum*  
2063 (Solanaceae). *Sociobiology*, **61**(1), 60-67.
- 2064  
2065 Bates, D., Maechler, M., Bolker, B & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects  
2066 Models using lme4. *Journal of Statistical Software*, **67**(1), 1-48.
- 2067  
2068 Bertholf, L. M. (1931). The distribution of stimulative efficiency in the ultra-violet  
2069 spectrum for the honeybee. *Journal of Agricultural Research*, **43**(8), 703-713.
- 2070  
2071 Biesmeijer, J.C., Richter, J.A.P., Smeets, M., & Sommeijer, M.J. (1999). Nectar  
2072 foraging by two species of *Melipona* in Costa Rica: Niche differentiation at patch level.  
2073 *Ecol. Entomol.*, **24**, 380–388.
- 2074  
2075 Bomfim, I., Bezerra, A.D. de M., Nunes, A.C., Fas, de A., & Freitas, B.F. (2014).  
2076 Adaptive and Foraging Behaviour of Two Stingless Bee Species (Apidae: Meliponini)  
2077 in Greenhouse Mini Watermelon Pollination. *Sociobiology*, **61**(4), 502-509.
- 2078  
2079 BPBES (2019). Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de  
2080 Alimentos no Brasil. Maíra C. G. Padgurschi (Org.). 1ª edição, São Carlos, SP: Editora  
2081 Cubo, pp.184.
- 2082  
2083 Camargo, J.M.F., Pedro S.R.M., & Melo, G.A.R. (2013). Meliponini Lepeletier, 1836.  
2084 In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). *Catalogue of Bees (Hymenoptera,*  
2085 *Apoidea) in the Neotropical Region - online version*. Available at  
2086 <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Accessed Aug/08/2022
- 2087  
2088 De Bruijn, L.L.M., & Sommeijer, M.J. (1997). Colony foraging in diferente species of  
2089 stingless bees (Apidae, Meliponinae) and the regulation of individual nectar foraging.  
2090 *Insectes Sociaux*, **44**, 35-47.
- 2091  
2092 Del Sarto, M.C.L. et al. (2005). Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona*  
2093 *quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. *Journal of*  
2094 *Economic Entomology*, **98**(2), 260-266.
- 2095  
2096 Domingos, H.G.T., & Gonçalves, L.S. (2014). Termoregulação de abelhas com ênfase  
2097 em *Apis mellifera*. *Acta Veterinaria Brasilica*, **8**(3), 151-154.
- 2098  
2099 Dutra, J.C.S. (2009). Atividade de meliponíneos (Hymenoptera: Apidae) em ambiente  
2100 protegido. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa. 87.p.

- 2101  
2102 Dyer, A.G., & Chittka, L. (2004). Bumblebee search time without ultraviolet light. The  
2103 Journal of Experimental Biology, **207**, 1683-1688.  
2104
- 2105 Eltz, T., Brühl, C.A., Imiyabir, Z., & Linsenmair, E.K. (2003). Nesting and nest trees of  
2106 stingless bees (Apidae: Meliponini) in lowland dipeterocarp forests in Sabah,  
2107 Malaysia, with implications for forest management. Forest Ecology and Management,  
2108 **172**, 301-313.  
2109
- 2110 Engels, W. Rosenkranz, P., & Engels, E. (1995). Thermoregulation in the nest of the  
2111 neotropical stingless bee *Scaptotrigona postica* and a hypothesis on the evolution of  
2112 temperature homeostasis in highly eusocial bees. Studies on Neotropical Fauna and  
2113 Environment, **30**(4), 193-205.  
2114
- 2115 Fontes, E.M.G. et al. (2016). Metodologia de seleção de abelhas sem ferrão para  
2116 polinização em cultivos protegidos. Documento 354, Empresa Recursos Genéticos e  
2117 Biotecnologia, Brasília, DF. 1-16.p.  
2118
- 2119 Gawryszewski, F.M. (2022). Modelvalidation (version 0.4.1). [Software RStudio,  
2120 version 4.2.1].  
2121
- 2122 Guibu, L.S., & Imperatriz-Fonseca, V.L. (1984). Atividade externa de *Melipona*  
2123 *quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Ciên. e Cult., **36** supl.  
2124 (7): 623.  
2125
- 2126 Hilário, S.D., Imperatriz-Fonseca, V.L., & Kleinert, A. de M.P. (2000). Flight activity  
2127 and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae,  
2128 Meliponinae). Rev. Brasil. Biol., **60**(2), 299-306.  
2129
- 2130 Hothorn, T. (2022). multcomp (version 1.4-19). [Software RStudio, version 4.2.1].  
2131
- 2132 Inmet – Instituto Nacional de Meteorologia (2022). In:  
2133 [https://portal.inmet.gov.br/noticias/balan%C3%A7o-do-ver%C3%A3o-2020-2021-nas-](https://portal.inmet.gov.br/noticias/balan%C3%A7o-do-ver%C3%A3o-2020-2021-nas-capitais-bras%C3%ADlia-goi%C3%A2nia-cuiab%C3%A1-porto-velho-e-palmas)  
2134 [capitais-bras%C3%ADlia-goi%C3%A2nia-cuiab%C3%A1-porto-velho-e-palmas](https://portal.inmet.gov.br/noticias/balan%C3%A7o-do-ver%C3%A3o-2020-2021-nas-capitais-bras%C3%ADlia-goi%C3%A2nia-cuiab%C3%A1-porto-velho-e-palmas)  
2135
- 2136 Jones, J.C., & Oldroyd, B.P. (2007). Nest thermoregulation in social insects. Advances  
2137 in Insect Physiology, **33**, 153-191.  
2138
- 2139 Labhart, T. (1974). Behavioral analysis of light intensity discrimination and spectral  
2140 sensitivity in the honey bee, *Apis mellifera*. Journal of comparative physiology, **95** (3),  
2141 203-216.  
2142
- 2143 Macieira, O.J.D., & Proni, E.A. (2004). Capacidade de resistência a altas e baixas  
2144 temperaturas em operárias de *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae)  
2145 durante os períodos de verão e inverno. Revista Brasileira de Zoologia. **21**(4), 893-896.  
2146
- 2147 Michener, C.D. (2013). The Meliponini. In: Vit P., Silvia R.M.P. & Roubik D. (Eds.),  
2148 *Pot honey: A legacy of stingless bees*. (pp. 3-18). Springer; New York, USA, pp. 654.  
2149

- 2150 Morandin L., et al. (2002). Effect of greenhouse polyethylene covering on activity level  
2151 and photo-response of bumble bees. *The Canadian Entomologist*, **134**, 539-549.  
2152
- 2153 Nouvian, M., & Galizia, C. G. (2020). Complexity and plasticity in honey bee  
2154 phototactic 2762 behaviour. *Scientific reports*, **10**(1), 1-15.  
2155
- 2156 Oliveira-Abreu, C., Hilário, S.D., Luz, C.F.P., & Alves-dos-Santos, I. (2014). Pollen  
2157 and néctar foraging by *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Hymenoptera:  
2158 Apidae: Meliponini) in natural habitat. *Sociobiology*, **61**(4), 441-448.  
2159
- 2160 Pedro, S.R.M. (2014). The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae).  
2161 *Sociobiology*, **61**(4), 348-354.  
2162
- 2163 Peitsch, D., et al. (1992). The spectral input systems of hymenopteran insects and their  
2164 receptor-based colour vision. *Journal of Comparative Physiology A*, **170**(1), 23-40.  
2165
- 2166 Pereboom, J.J.M., & Biesmeijer, J.C. (2003). Thermal constraints for stingless bee  
2167 foragers: the importance of body size and coloration. *Oecologia*, **137**, 42-50.  
2168
- 2169 Rossel, S., & Wehner, R. (1986). Polarization vision in bees. *Nature*, **323** (6084), 128–  
2170 131.  
2171
- 2172 Sbordini, Y.S.R. (2015). Termoregulação em abelhas sem ferrão (Hymenoptera,  
2173 Apidae, Meliponini): produção ativa de calor e metabolismo energético. Tese de  
2174 doutorado. Universidade de São Paulo. 125.p.  
2175
- 2176 Shimoda, M., & Honda, K. (2013). Insect reactions to light and its applications to pest  
2177 management. *Applied Entomology Zoology*, **48**, 413-421.  
2178
- 2179 Silva, M.A., Oliveira, F.A., & Hrcir, M. (2016). Effect of different pollination  
2180 treatment in eggplant in a greenhouse. *Revista Verde de Agroecologia e*  
2181 *Desenvolvimento Sustentável*, **11**(1), 30-36.  
2182
- 2183 Silva, M.A., et al. (2017). On the thermal limits for the use of stingless bees as  
2184 pollinators in commercial greenhouses. *Journal of Apicultural Research*, **56**(1), 81-90.  
2185
- 2186 Silva-Neto, C.M., et al. (2018). The stingless bee mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*  
2187 Lepeletier) increases the quality of greenhouse tomatoes. *Journal of Apicultural*  
2188 *Research*, **58**, 1-6.  
2189
- 2190 Silva, C.P. (2019). Influência da temperatura e umidade sobre as atividades de voo e  
2191 sobrevivência de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Apidae,  
2192 Meliponini). Dissertação de mestrado, Universidade de São Carlos. 54.p.  
2193
- 2194 Slaa, E.J., et al. (2006). Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives.  
2195 *Apidologie*, **37**, 293-315.  
2196
- 2197 Streinzer, M., Huber, W., & Spaethe, J. (2016). Body size limits dim-light foraging  
2198 activity in stingless bees (Apidae: Meliponini). *Journal of Comparative Physiology A*,  
2199 **202**, 643-655.

2200  
2201 Villas-Bôas, J. (2018). Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral dos Produtos  
2202 das Abelhas Sem Ferrão. Brasília, DF. Instituto Sociedade, População e Natureza  
2203 (ISPN). 2° ed. Brasil. pp. 212.

2204  
2205 Spaethe, J., Streinzer, M., Eckert, J., May, S. & Dyer, A.G. (2014). Behavioural  
2206 evidence of colour vision in free flying stingless bees. *J. Comp. Physiol. A*, **200**, 485–  
2207 496.

2208

2209

2210

### 2211 3.8 ACKNOWLEDGMENTS

2212 We thank the undergraduate students of the Ecology and Biosafety Laboratory:  
2213 Henrique Cardoso, Lucas Borges, Raíssa Costa, Michelle Cogitskei, Paula Pontes, and  
2214 Enéas Rocha, for their support in data collection.

2215

### 2216 3.9 FUNDING DETAILS

2217 This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
2218 Tecnológico (CNPq - 400555/2018-2); Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito  
2219 Federal (FAP-DF - 00193.0000054/2019-37); Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e  
2220 dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA); and Associação Brasileira de Estudos das  
2221 Abelhas (ABELHA). The first author is the recipient of a research scholarship at the  
2222 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em nível Superior (Capes). This study is  
2223 part of the first author's PhD thesis and is part of a larger research project (Embrapa  
2224 SEG) coordinated by Carmen S S Pires.

2225

2226

### 2227 3.10 DISCLOSURE STATEMENT

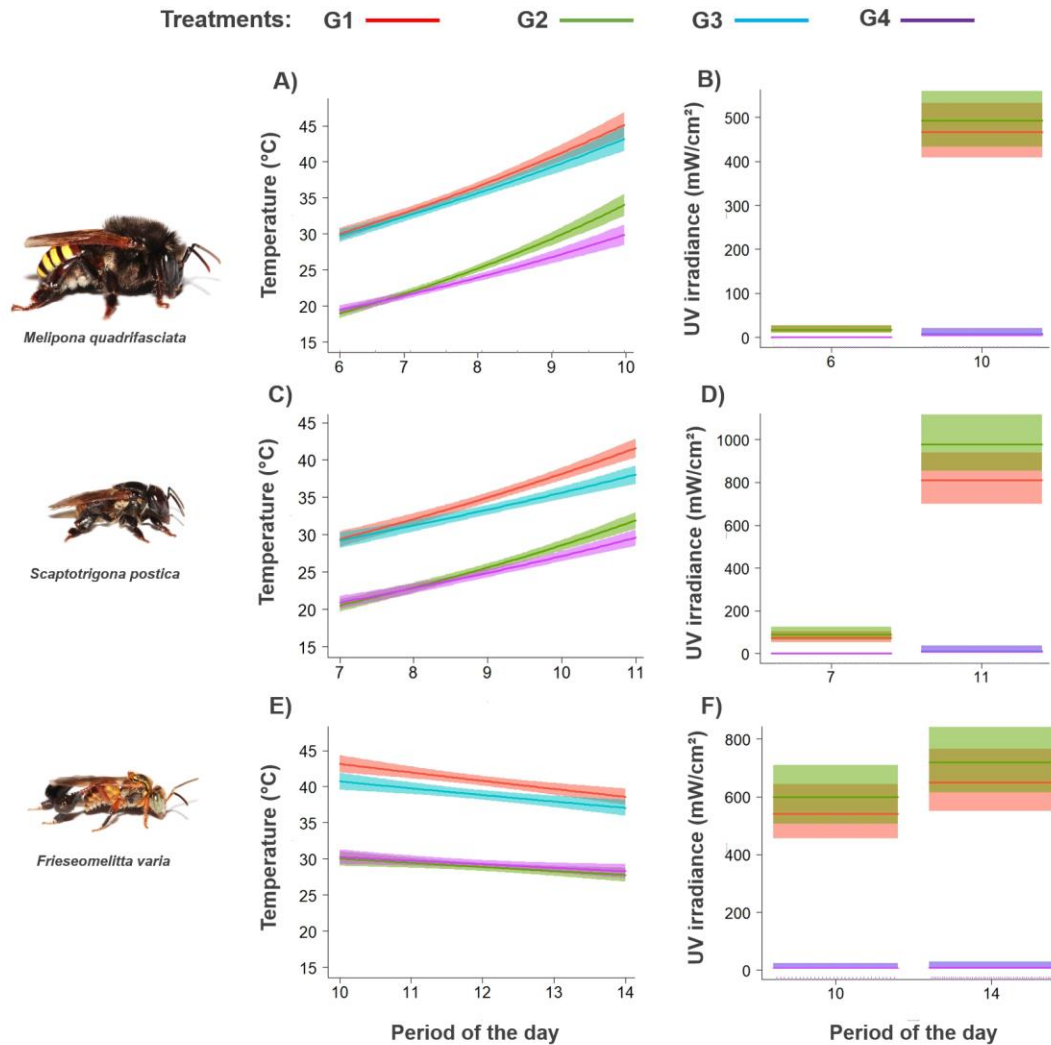
2228 The authors report there are no competing interests to declare.

2229

### 2230 3.11 FIGURES

2231





2232

2233 Fig. 1. Estimates of temperature (A, C and E) and irradiance in the UV range (365 nm)

2234 (B, D and F) measured inside 5.3 cubic meter experimental arenas made of wood and

2235 different covering materials at different times of the day. The treatments were: G1:

2236 UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena with hot air conditioning (red line); G2:

2237 UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with cold air conditioning (green line); G3:

2238 UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with hot air conditioning (blue line);

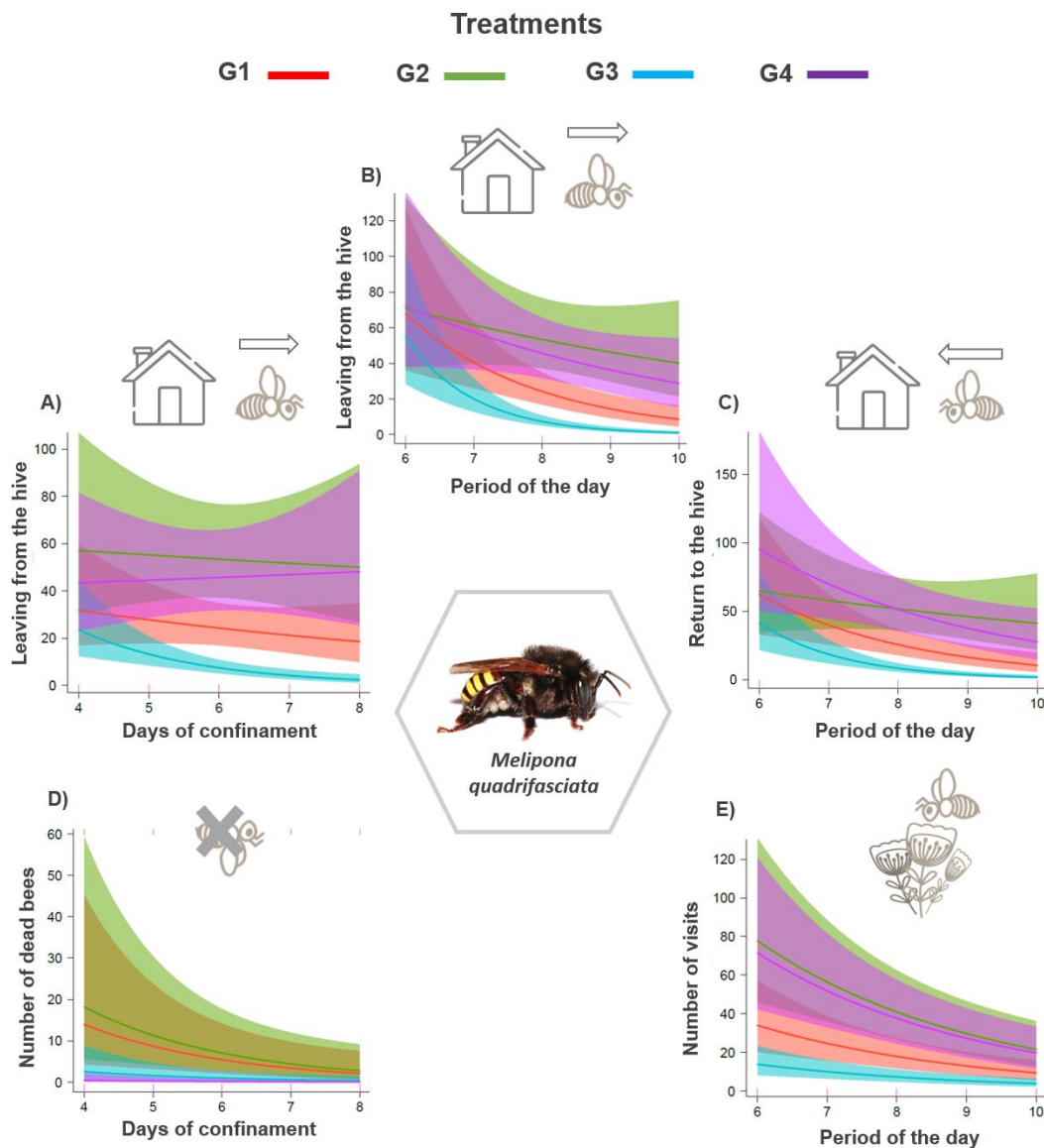
2239 G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with cold air conditioning (purple

2240 line). Data from *Scaptotrigona cf. postica* were obtained between 07:00 -11:00 am;2241 *Melipona quadrifasciata* between 06:00-10:00 am; and *Frieseomelitta varia* between

2242 10:00 am – 14:00 pm. Model estimates are based on the models described in Table S2.

2243 Shades around the lines represent the confidence interval.

2244

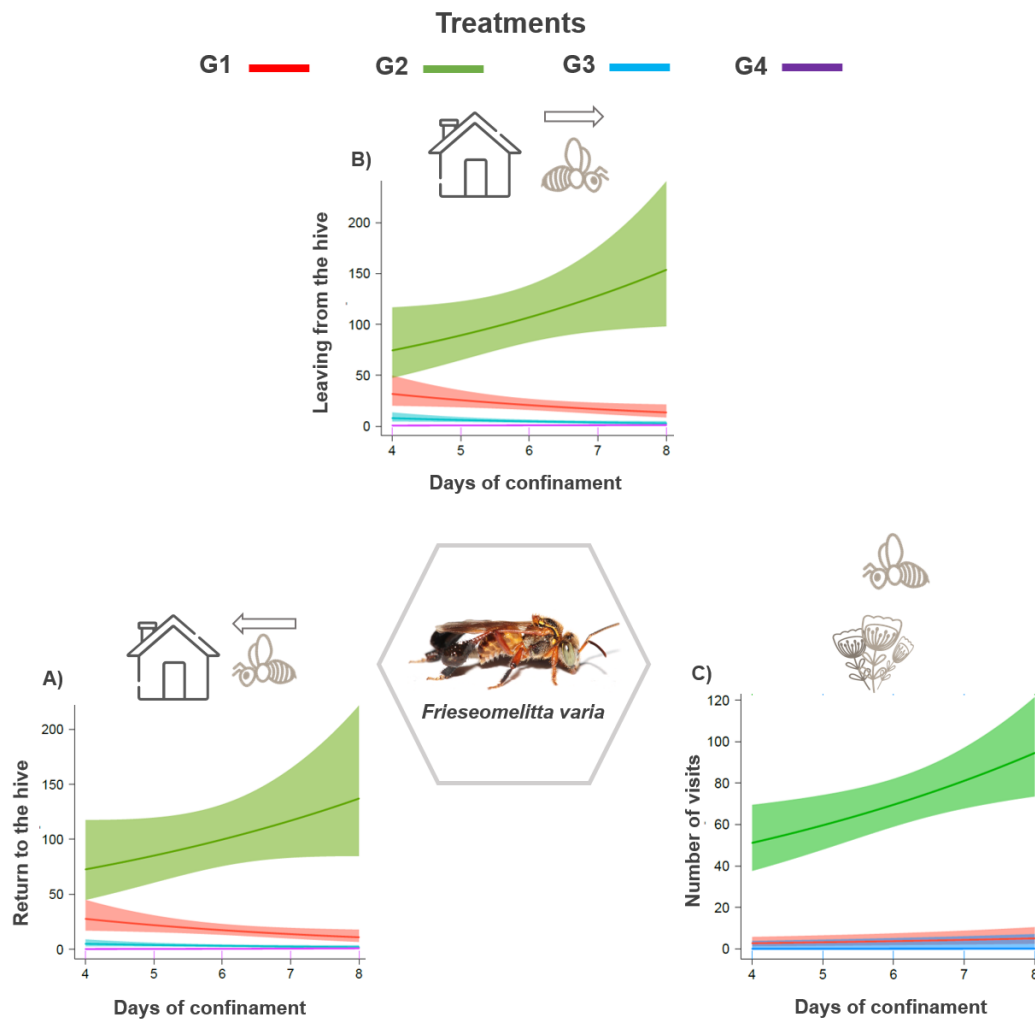


2245

2246 Fig. 2 - Average number of exits (A and B) and entries (C) from the hive; dead  
 2247 individuals (D) and visits to the visits to resource sources (E) for the species *Melipona*  
 2248 *quadrifasciata* as a function of the days of confinement or observation times. The  
 2249 treatments were: G1: UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena with hot air  
 2250 conditioning (red line); G2: UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with cold air  
 2251 conditioning (green line); G3: UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with hot  
 2252 air conditioning (blue line); G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with  
 2253 cold air conditioning (purple line). The model estimates are based on the models  
 2254 described in table S3. Shades around the lines represent the confidence interval. The  
 2255 graphs included represent the response variable that had a significant effect (more  
 2256 details in table S3).

2257

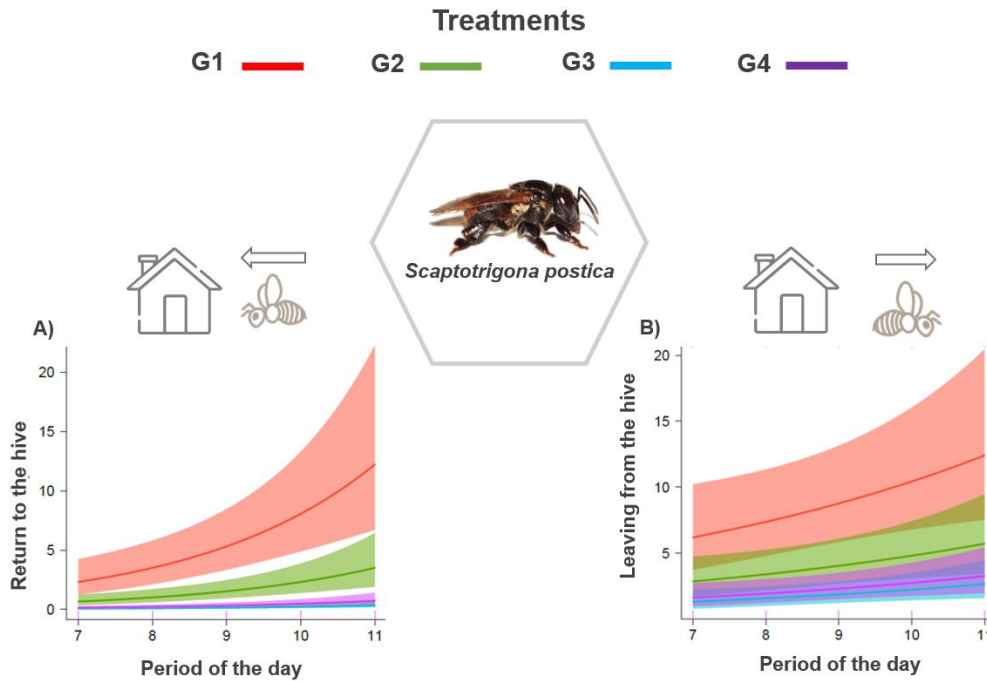
2258



2259

2260 Fig. 3 - Average number of exits (A) and entries (B) from the hive and visits to resource  
 2261 sources (C) for the species *Frieseomelitta varia* as a function of days of confinement or  
 2262 observation times. The treatments were: G1: UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena  
 2263 with hot air conditioning (red line); G2: UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with  
 2264 cold air conditioning (green line); G3: UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena  
 2265 with hot air conditioning (blue line); G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue®  
 2266 arena with cold air conditioning (purple line). The model estimates are based on the  
 2267 models described in table S3. Shades around the lines represent the confidence interval.  
 2268 The graphs included represent the response variable that had a significant effect (more  
 2269 details in table S3).

2270



2271

2272 Fig. 4 - Average number of exits (A) and entries (B) from the hive for the species  
 2273 *Scaptotrigona cf. postica* over the of days of confinement or period of observation. The  
 2274 treatments were: G1: UV+/T+ = 4mm clear glass covered arena with hot air  
 2275 conditioning (red line); G2: UV+/T- = 4mm clear glass covered arena with cold air  
 2276 conditioning (green line); G3: UV-/T+ = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with hot  
 2277 air conditioning (blue line); G4: UV-/T- = Ginegar's SunCover AV Blue® arena with  
 2278 cold air conditioning (purple line). The model estimates are based on the models  
 2279 described in table S3. Shades around the lines represent the confidence interval. The  
 2280 graphs included represent the response variable that had a significant effect (more  
 2281 details in table S3).

2282

2283

2284

2285

2286

2287

2288

2289

2290

2291

2292

## 2293 3.12 SUPPLEMENTARY MATERIAL - TABLES E FIGURES

2294

2295 Table S1 - Mean values and standard error from the different behaviours (return to the  
 2296 hive, leaving from the hive, number of dead bees and visit to resource sources) between  
 2297 treatments for each of the stingless bees species (*M. quadrifasciata*, *F. varia* and *S. cf.*  
 2298 *postica*). Significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments were represented by  
 2299 letters a, b, c and d.

|                              |            | Behaviours                                  |  |   |  |
|------------------------------|------------|---|--|---|--|
| Species                      | Treatments | Return to the<br>hive<br>(Mean $\pm$<br>SE) | Leaving<br>from the<br>hive<br>(Mean $\pm$ SE) | Number of dead<br>bees (Mean $\pm$<br>SE) | Visit to<br>resource<br>sources<br>(Mean $\pm$ SE) |
| <i>M.<br/>quadrifasciata</i> | UV+/T+ (*) | 31.13 $\pm$ 5.91 a                          | 30.79 $\pm$ 5.76                               | 6.28 $\pm$ 2.58 a                         | 20.85 $\pm$ 3.60 a                                 |
|                              | UV+/T-     | 52.19 $\pm$ 7.08 b                          | 54.33 $\pm$ 5.76                               | 8.73 $\pm$ 3.86 ab                        | 38.50 $\pm$ 4.69 b                                 |
|                              | UV-/T+     | 13.93 $\pm$ 3.10 ac                         | 14.78 $\pm$ 3.28                               | 1.20 $\pm$ 0.60 c                         | 9.43 $\pm$ 2.20 a                                  |
|                              | UV-/T-     | 55.77 $\pm$ 10.11 ab                        | 47.41 $\pm$ 6.12                               | 0.20 $\pm$ 0.14 c                         | 38.08 $\pm$ 4.34 b                                 |
| <i>F. varia</i>              | UV+/T+ (*) | 18.29 $\pm$ 2.05 a                          | 21.60 $\pm$ 2.13<br>a                          | 12.60 $\pm$ 4.81 a                        | 3.85 $\pm$ 1.17 a                                  |
|                              | UV+/T-     | 102.37 $\pm$ 10.58 b                        | 110.45 $\pm$<br>11.57 b                        | 1.75 $\pm$ 0.59 b                         | 71.1 $\pm$ 9.13 b                                  |
|                              | UV-/T+     | 3.29 $\pm$ 0.63 c                           | 5.02 $\pm$ 0.82 c                              | 0.53 $\pm$ 0.19 b                         | 0.00 $\pm$ 0                                       |
|                              | UV-/T-     | 0.54 $\pm$ 0.12 d                           | 0.93 $\pm$ 0.17 d                              | 0.60 $\pm$ 0.23 b                         | 0.08 $\pm$ 0.05 c                                  |
| <i>S. cf. postica</i>        | UV+/T+ (*) | 6.27 $\pm$ 1.73 a                           | 9.34 $\pm$ 1.86 a                              | 52.80 $\pm$ 21.21 a                       | 0.00 $\pm$ 0                                       |
|                              | UV+/T-     | 1.97 $\pm$ 0.65 b                           | 4.24 $\pm$ 0.82 b                              | 15.10 $\pm$ 4.39 ab                       | 0.12 $\pm$ 0.03                                    |
|                              | UV-/T+     | 0.16 $\pm$ 0.05 c                           | 1.83 $\pm$ 0.36 c                              | 7.75 $\pm$ 3.70 b                         | 0.09 $\pm$ 0.05                                    |
|                              | UV-/T-     | 0.36 $\pm$ 0.12 c                           | 2.38 $\pm$ 0.48 c                              | 9.90 $\pm$ 4.71 b                         | 0.46 $\pm$ 0.15                                    |

2300 (\*) In models where there was interaction between explanatory variables (see Table S2), the  
 2301 difference between treatments ( $p < 0.05$ ) was obtained, when it was possible, from the model  
 2302 summary based on the intercept (UV+/T+) or by graphical analysis of figures 5, 6 and 7.

2303

2304

2305

2306

2307

2308

2309

2310

2311

2312

2313 Table S2 – Summary (parameters and standard error) of temperature and UV irradiance  
 2314 (quasipoisson) GLMs models relating to treatments (T), period of the day (PD) or  
 2315 interaction between both variables (T X PD). Models have been fitted for *Scaptotrigona*  
 2316 *cf. postica*, *Frieseomelitta varia* and *Melipona quadrifasciata*.

|                               | Temperature (°C)                       |                                     |                               | UV irradiance (mW/cm <sup>2</sup> )   |                                    |                              |
|-------------------------------|--|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
|                               | <i>M. quadrifasciata</i><br>(N = 1355) | <i>S. cf. postica</i><br>(N = 1583) | <i>F. varia</i><br>(N = 1199) | <i>M. quadrifasciata</i><br>(N = 135) | <i>S. cf. postica</i><br>(N = 156) | <i>F. varia</i><br>(N = 160) |
| <b>Treatments (T)</b>         |  |                                     |                               |                                       |                                    |                              |
| Treatment 1 (Intercept)       | 3.09 (0.03)                            | 2.77 (0.06)                         | 3.97 (0.03)                   | 2.80 (0.22)                           | 4.29 (0.17)                        | 6.29 (0.08)                  |
| Treatment 2                   | - 0.58 (0.05)                          | - 0.52 (0.09)                       | - 0.34 (0.01)                 | 0.05 (0.09)                           | 0.18 (0.09)                        | 0.10 (0.09)                  |
| Treatment 3                   | 0.01 (0.04)                            | 0.13 (0.09)                         | - 0.04 (0.01)                 | - 4.11 (0.52)                         | - 4.31 (0.64)                      | - 4.30 (0.61)                |
| Treatment 4                   | - 0.45 (0.05)                          | - 0.34 (0.09)                       | - 0.33 (0.01)                 | - 4.21 (0.57)                         | - 4.45 (0.68)                      | - 4.35 (0.63)                |
| <b>Period of the day (PD)</b> | 0.05 (0.00)                            | 0.08 (0.00)                         | - 0.02 (0.00)                 | - 3.33 (0.22)                         | 2.40 (0.17)                        | -                            |
| <b>T x PC (Interaction)</b>   |  |                                     |                               |                                       |                                    |                              |
| T1 x DC                       | 3.14 (0.03)                            | 2.85 (0.06)                         | -                             | -                                     | -                                  | -                            |
| T2 x DC                       | 0.02 (0.00)                            | 0.02 (0.01)                         | -                             | -                                     | -                                  | -                            |
| T3 x DC                       | - 0.00 (0.00)                          | - 0.02 (0.00)                       | -                             | -                                     | -                                  | -                            |
| T4 x DC                       | 0.00 (0.00)                            | 0.00 (0.01)                         | -                             | -                                     | -                                  | -                            |
| <b>Dispersion parameter</b>   | 0.83                                   | 1.27                                | 0.86                          | 32.84                                 | 91.83                              | 119.87                       |
| <b>Residual deviance</b>      | 0.83                                   | 1.27                                | 0.88                          | 31.13                                 | 91.86                              | 111.90                       |
| <b>R<sup>2</sup>m</b>         | 0.64                                   | 0.50                                | 0.48                          | -                                     | -                                  | -                            |

2317

2318

2319

2320

2321

2322

2323

2324

2325

2326

2327

2328

2329

2330 Table S3 – Summary (parameters and standard error) of entrance, exit, mortality and  
 2331 visits to resource sources (negative binomial or quasipoisson) GLMs models relating to  
 2332 treatments (T), period of the day (PD), days in confinement (DC) or interaction between  
 2333 variables (T X PD and T X DC). Models have been fitted for *Scaptotrigona cf. postica*,  
 2334 *Frieseomelitta varia* and *Melipona quadrifasciata*.

|                                 | Return to the hive                 |                             |                           | Leaving from the hive              |                             |                           | Number of dead bees               |                            |                          | Visits to resource sources         |                             |                           |
|---------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|                                 | <i>M.quad rifasciata</i> (N = 398) | <i>S. postica</i> (N = 400) | <i>F. varia</i> (N = 400) | <i>M.quad rifasciata</i> (N = 398) | <i>S. postica</i> (N = 400) | <i>F. varia</i> (N = 400) | <i>M.quad rifasciata</i> (N = 59) | <i>S. postica</i> (N = 80) | <i>F. varia</i> (N = 75) | <i>M.quad rifasciata</i> (N = 398) | <i>S. postica</i> (N = 400) | <i>F. varia</i> (N = 325) |
| <b>Treatments (T)</b>           |                                    |                             |                           |                                    |                             |                           |                                   |                            |                          |                                    |                             |                           |
| Treatment 1 (G1) (Intercept)    | 6.79 (1.07)                        | - 2.08 (0.91)               | 4.24 (0.62)               | 8.10 (1.32)                        | 0.60 (0.70)                 | 4.30 (0.58)               | 4.52 (1.23)                       | 3.96 (0.39)                | 2.53 (0.30)              | 5.45 (0.65)                        | -                           | 0.40 (0.50)               |
| Treatment 2 (G2)                | - 1.94 (1.52)                      | - 1.25 (0.34)               | - 0.59 (0.87)             | - 2.79 (1.87)                      | - 0.77 (0.29)               | - 0.72 (0.81)             | 0.26 (0.67)                       | - 1.25 (0.56)              | - 1.97 (0.45)            | 0.82 (0.30)                        | -                           | 2.91 (0.36)               |
| Treatment 3 (G3)                | 1.76 (1.55)                        | - 3.60 (0.42)               | - 1.70 (0.98)             | 5.32 (1.94)                        | - 1.54 (0.29)               | - 1.20 (0.91)             | - 1.69 (0.72)                     | - 1.91 (0.57)              | - 3.16 (0.58)            | - 0.89 (0.30)                      | -                           | **                        |
| Treatment 4 (G4)                | - 0.38 (1.53)                      | - 2.82 (0.38)               | - 6.61 (1.03)             | - 2.60 (1.87)                      | 1.33 (0.29)                 | - 5.15 (0.88)             | - 3.46 (0.90)                     | - 1.67 (0.56)              | 3.04 (0.51)              | 0.74 (0.30)                        | -                           | - 3.77 (2.12)             |
| <b>Days in confinement (DC)</b> |                                    |                             |                           |                                    |                             |                           |                                   |                            |                          |                                    |                             |                           |
| T x DC (Interaction)            |                                    |                             |                           |                                    |                             |                           |                                   |                            |                          |                                    |                             |                           |
| G1 x DC                         | -                                  | -                           | 4.01 (0.52)               | 8.20 (1.50)                        | -                           | 4.01 (0.49)               | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| G2 x DC                         | -                                  | -                           | 0.38 (0.14)               | 0.10 (0.18)                        | -                           | 0.39 (0.13)               | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| G3 x DC                         | -                                  | -                           | - 0.00 (0.16)             | - 0.44 (0.19)                      | -                           | - 0.04 (0.14)             | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| G4 x DC                         | -                                  | -                           | 0.51 (0.16)               | 0.16 (0.18)                        | -                           | 0.34 (0.14)               | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| <b>Period of the day (PD)</b>   |                                    |                             |                           |                                    |                             |                           |                                   |                            |                          |                                    |                             |                           |
| T x PD (Interaction)            |                                    |                             |                           |                                    |                             |                           |                                   |                            |                          |                                    |                             |                           |
| G1 x PD                         | 6.35 (0.94)                        | -                           | -                         | 7.59 (1.45)                        | -                           | -                         | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| G2 x PD                         | 0.33 (0.18)                        | -                           | -                         | 0.37 (0.18)                        | -                           | -                         | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| G3 x PD                         | - 0.36 (0.19)                      | -                           | -                         | - 0.48 (0.19)                      | -                           | -                         | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| G4 x PD                         | 0.13 (0.18)                        | -                           | -                         | 0.28 (0.18)                        | -                           | -                         | -                                 | -                          | -                        | -                                  | -                           | -                         |
| <b>Dispersion parameter</b>     | 1                                  | 1                           | 1                         | 1                                  | 1                           | 1                         | 1                                 | 1                          | 1                        | 1                                  | -                           | 48.47                     |
| <b>Residual</b>                 | 1.12                               | 0.60                        | 1.04                      | 1.13                               | 0.88                        | 1.10                      | 0.87                              | 1.16                       | 1.01                     | 1.01                               | -                           | 39.58                     |

| Deviance         |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |   |   |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---|---|
| R <sup>2</sup> m | 0.22 | 0.28 | 0.68 | 0.29 | 0.08 | 0.66 | 0.45 | 0.14 | 0.44 | 0.12 | - | - |

2335

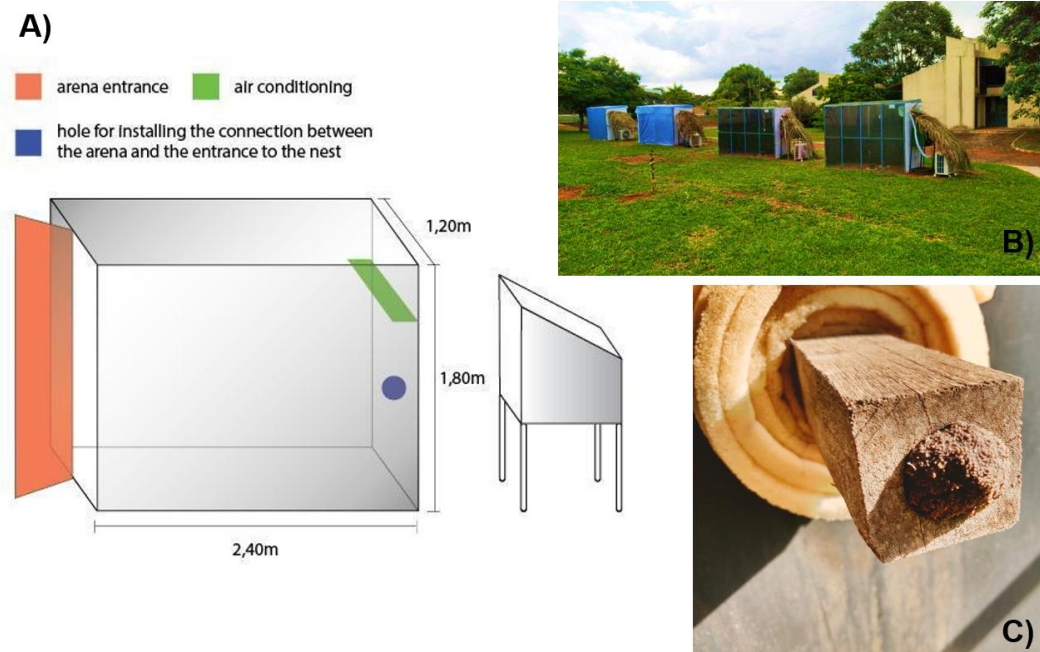
2336 \*Model did not fit well; too few visits led to too low standard error values

2337 \*\* G3 with no recorded visits; this data had to be removed from the model in order to adjust it

2338

2339

2340

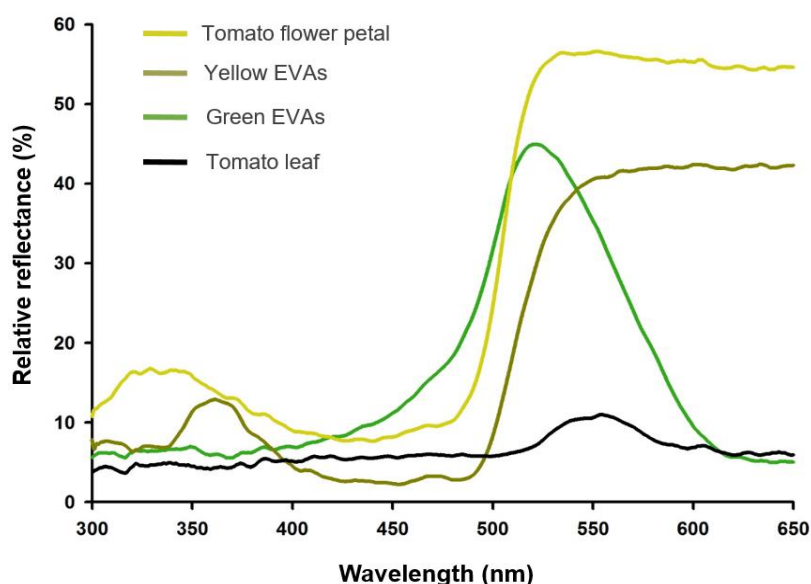


2341

2342 Fig. S1. (A) Schematic representation of the arenas (above), indicating the door for  
 2343 entry into the arena (in red), position of the air conditioning (in green) and hole for  
 2344 connecting the hives by 15 cm diameter wooden tubes (in blue) (extracted from Ramos,  
 2345 DL. *et al.*, 2022, data under publication). (B) Image of the experimental arenas (below)  
 2346 installed in the experimental area located at Embrapa Genetic Resources and  
 2347 Biotechnology. The four arenas were made of iron, demountable and covered with  
 2348 different covering materials on the ceiling and front wall. The nests of the three  
 2349 stingless bee species evaluated were placed externally on a support and the entrance of  
 2350 the hives was connected to the interior of the arenas through a 15 cm long wooden tube,  
 2351 as represented in letter C.

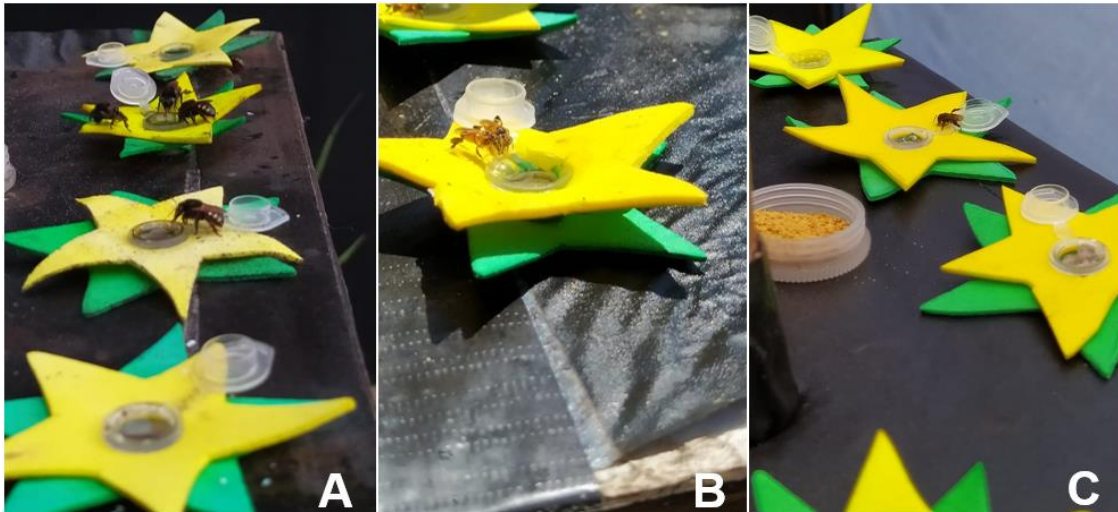
2352





2353

2354 Fig. S2 – Relative Reflectance (%) spectrum of artificial and tomato flowers. The  
 2355 artificial flowers were made of EVA (rubberized polymer Ethylene Vinyl Acetate) in  
 2356 yellow and green, to simulate the sepals and petals of tomato flowers. To evaluate  
 2357 reflectance, three measurements of each EVA (i.e. yellow and green) and of flower  
 2358 petals were taken from distinct flowers. The measurements were made using a  
 2359 bifurcated fiber optic probe (R-400-7-UV-VIS, Ocean Optics), connected to a  
 2360 spectrophotometer (USB2000 +UV-VIS-ES, Ocean Optics) calibrated between 300 and  
 2361 700 nm incident light on a vessel with diffuse white standard (BaSO<sub>4</sub>). Measurements  
 2362 were made by positioning the probe very close to the structure of interest, at an angle of  
 2363 90° to the surface being measured. The readings of the reflectance curve between 300 -  
 2364 650 nanometers (nm) of tomato flower petals (yellow line), leaves (black line) and yellow  
 2365 (moss green line) and green (dark green line) EVAs were made in the Ocean View 1.6.7  
 2366 program. Illumination in the UV-VIS range was provided with a pulsed xenon light  
 2367 source (PX-2, 220-750 nm, Ocean Optics).



2368

2369 Fig. S3. Artificial flowers used in bioassays with the bees *Melipona quadrifasciata* (a),  
2370 *Frieseomelitta varia* (b) and *Scaptotrigona cf. postica* (c). These flowers were shaped  
2371 like a star with about 7cm length from one end to the other and were made of EVA  
2372 (rubberized polymer Ethylene Vinyl Acetate) in yellow and green, to simulate the sepals  
2373 and petals. An eppendorf tube containing a 70% solution of water and sugar was placed  
2374 in the central part of these flowers.

2375

2376 **4. CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA VISITAÇÃO DA ABELHA SEM**  
2377 **FERRÃO *MELIPONA QUADRIFASCIATA* EM FLORES DE DUAS**  
2378 **CULTIVARES DE TOMATEIRO (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* L.) E**  
2379 **SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS FLORAIS**

2380

2381 4.1 RESUMO

2382 A polinização ocorre por meio de uma interação mutualística entre planta e  
2383 polinizador com beneficiados diretos no sucesso reprodutivo de ambos. Entre os fatores  
2384 que podem influenciar esta interação, estão os atributos florais, que variam entre espécies  
2385 ou dentro da mesma espécie. Em cultivares agronômicas, tais diferenças podem ser  
2386 determinantes na atratividade de polinizadores efetivos. Poucos estudos, contudo, têm  
2387 avaliado a relação entre visitação por abelhas polinizadoras e a variação intraespecífica  
2388 de atributos florais das plantas cultivadas. Este estudo avaliou se a visitação pela abelha  
2389 *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (mandaçaia), difere entre duas cultivares (Italiano e  
2390 Cereja) de tomateiro (*Lycopersicum esculentum* L.) em cultivo orgânico em estufa.  
2391 Caracterizou-se diferentes atributos florais de ambas cultivares para estabelecer uma  
2392 relação com a visitação floral por *M. quadrifasciata* a partir de ninhos introduzidos nas  
2393 estufas. Também testou-se se o aumento no número de forrageiras poderia afetar o padrão  
2394 de visitação em flores de ambas cultivares. A abelha mandaçaia visitou com maior  
2395 frequência as flores da cultivar Italiano do que a cultivar Cereja. As flores da cultivar  
2396 Italiano apresentaram maior tamanho médio, e maior quantidade de grãos de pólen por  
2397 flor, mas menor display floral (*i.e.* número de flores por inflorescência). Não foram  
2398 encontradas diferenças no padrão de reflectância das partes florais e folhas entre as duas  
2399 cultivares. Experimentos feitos em olfatômetro em “Y” não mostraram diferenças na  
2400 escolha das abelhas entre os voláteis das duas cultivares. O aumento de forrageiras  
2401 contribuiu para uma maior visitação, chegando a mais de 50% de flores visitadas em  
2402 ambas cultivares. Tais resultados confirmam o potencial uso da abelha *M. quadrifasciata*  
2403 para a polinização das cultivares de tomateiro avaliadas em estufa. Contudo, sugere-se  
2404 que sejam adotadas diferentes estratégias de manejo no serviço de polinização assistida  
2405 (e.g. inserção de menos caixas de abelhas) a depender da cultivar agronômica.

2406

2407 **Palavras-chave:** Meliponíneo. Mandaçaia. Atrativos. Recurso floral.

2408

2409

2410

## 2411 4.2 INTRODUÇÃO

2412 O serviço de polinização, em geral, é tido como uma interação mutualística por  
2413 envolver benefícios às plantas e seus visitantes florais. Os agentes envolvidos maximizam  
2414 sua sobrevivência e sucesso reprodutivo mediante um equilíbrio entre os custos e  
2415 benefícios desta relação (RECH *et al.*, 2014). De um lado, as plantas, dependentes de  
2416 polinizadores, necessitam da transferência intraespecífica dos grãos de pólen com o  
2417 menor gasto energético. Para isso, desenvolveram adaptações e estratégias que visam  
2418 atrair animais que sejam eficientes nesta transferência. Por outro lado, os visitantes florais  
2419 procuram obter o máximo de retorno na busca por recursos vantajosos, com o mínimo de  
2420 esforço, seja na extração deste ou na locomoção para obtê-lo (RECH *et al.*, 2014).

2421 Os traços florais (aqui denominados de atributos) são caracteres morfológicos  
2422 (e.g. tamanho, forma, *display* floral, textura), atrativos (e.g. cor, odor) e recursos  
2423 nutritivos (e.g. pólen, néctar, óleos) que foram selecionados ao longo da história evolutiva  
2424 das plantas, e têm sido alvos de estudos por seus papéis no reconhecimento e atratividade  
2425 de polinizadores (KEVAN, 1983; DAFNI; KEVAN, 1997). Estes atributos podem atuar  
2426 em conjunto ou não e assim determinar a preferência por parte dos visitantes florais de  
2427 uma dada planta (WRIGHT; SCHIESTL, 2009). Alguns estudos têm indicado que  
2428 atributos florais visuais e olfativos são muito importantes na atratividade de  
2429 polinizadores, dado a capacidade de reconhecimento por parte dos animais de padrões de  
2430 coloração mais atrativos, bem como de odores específicos (FERNANDES *et al.*, 2019).  
2431 Contudo, mais estudos envolvendo estes e outros atributos florais são necessários,  
2432 sobretudo em espécies cultiváveis que interagem com polinizadores.

2433 No contexto agrícola, boa parte dos cultivares atuais são oriundos de cruzamentos  
2434 que visam selecionar plantas com maior desempenho de produtividade, tolerância a  
2435 doenças e pragas (KLATT *et al.*, 2013). Entretanto, pouca atenção tem sido dada à relação  
2436 entre atributos florais dessas cultivares e sua atratividade aos polinizadores, mesmo  
2437 sabendo da importância destes animais na produção agrícola. Alguns trabalhos têm  
2438 mostrado que polinizadores conseguem distinguir e selecionar cultivares mais atrativos  
2439 em espécies agrícolas, como morango (KLATT *et al.*, 2013; CEUPPENS *et al.*, 2015),  
2440 canola (WRIGHT *et al.*, 2002), e melão (FERNANDES *et al.*, 2019). Contudo, pouco se  
2441 sabe sobre o grau de atratividade dos diferentes cultivares aos polinizadores, e se esta  
2442 atratividade difere ou não entre cultivares, uma vez que estas podem apresentar atributos  
2443 florais bastante distintos (FERNANDES *et al.*, 2019).

2444 Na família Solanaceae, o papel de atributos florais (*i.e.* tamanho da flor e tipo de  
2445 odores) na polinização já foi estudado para algumas espécies, como o tomateiro  
2446 (*Lycopersicum esculentum*). Morse *et al* (2012) observaram que a espécie de abelha  
2447 *Bombus impatiens* (CRESSON, 1863) (Hymenoptera: Apidae) forrageou  
2448 preferencialmente em flores do tomateiro que liberaram quantidades menores de  
2449 compostos voláteis  $\beta$ -felandreno e (+)- 2-careno, e preferiu flores com pétalas menores  
2450 em uma das cultivares de tomate estudada. Segundo os autores, a produção destes voláteis  
2451 deve estar associada à indicação de menos recursos presentes na flor ou ainda podem  
2452 atuar como repelentes para as abelhas. Mais estudos são necessários para identificar o  
2453 papel deste e de outros atributos florais presentes no tomateiro e sua relação com a  
2454 atratividade de polinizadores manejados, sobretudo em sistemas protegidos.

2455 O tomateiro possui grande importância alimentar e nutricional, estando presente  
2456 na mesa da população sob diversas formas, sendo consumido *in natura* ou em produtos  
2457 industrializados, como molhos e extratos (CONAB, 2019). Segundo dados da FAO, a  
2458 produção de tomate em nível mundial no ano de 2016 chegou a 177 milhões de toneladas  
2459 em cerca de 4,8 milhões de hectares de área plantada. Neste mesmo ano, o Brasil esteve  
2460 entre os nove principais países produtores desta cultura, com valores de produção  
2461 superiores a 4 milhões de toneladas. As cultivares de tomateiro utilizados no consumo *in*  
2462 *natura* dividem-se em quatro grandes grupos: Cereja, Santa Cruz, Italiano e Salada.  
2463 (ÁVILA *et al.*, 2022). No Brasil, os principais tomates comercializados são o Salada,  
2464 seguido do Italiano e Cereja (CONAB, 2019), sendo estes dois últimos cultivados  
2465 sobretudo em sistemas orgânicos, dado a natureza rústica destas cultivares em relação as  
2466 demais.

2467 Em experimentos pilotos, observou-se em casas de vegetação contendo plantas de  
2468 tomateiro e pepino, a atividade de voo e forrageamento de três espécies de abelhas sem  
2469 ferrão: *Melipona quadrifasciata* (LEPELETIER, 1836), *Frieseomelitta varia*  
2470 (LEPELETIER, 1836) e *Scaptotrigona cf. postica* (LETREILLE, 1807). As três espécies  
2471 conseguiram se aclimatar às condições internas do local, apresentando voo orientado.  
2472 Contudo, apenas a espécie *M. quadrifasciata*, que realiza o comportamento de vibração  
2473 nas flores, visitou e coletou pólen nas flores do tomateiro dado ao seu comportamento de  
2474 vibração nas flores de plantas com anteras poricidas, comum na família Solanaceae e  
2475 necessário para a polinização da cultura. Desta forma, dado a boa aclimação desta  
2476 espécie em sistemas protegidos aliado ao fato de ser uma polinizadora efetiva na cultura  
2477 do tomateiro, trabalhamos apenas com ninhos desta espécie para a realização dos

2478 experimentos deste estudo. A partir do uso desta espécie, buscou-se favorecer neste  
2479 estudo o uso da biodiversidade local em sistemas protegidos, adequando as tecnologias  
2480 de manejo para ambientes tropicais.

2481 Este capítulo teve como objetivo principal relacionar o papel de diferentes  
2482 atributos florais (morfometria, quantidade de pólen e odores florais) com a visitação da  
2483 abelha sem ferrão mandaçaia em flores de duas cultivares de tomateiro. Para isto, buscou-  
2484 se: (1) avaliar se há preferências na visitação da abelha *M. quadrifasciata* nas diferentes  
2485 cultivares de tomateiro; (2) em caso de preferência, caracterizar os diferentes atributos  
2486 florais das cultivares de tomateiro estudados buscando entender suas implicações  
2487 ecológicas; (3) identificar se os voláteis florais de alguma das cultivares avaliadas é mais  
2488 atrativo para a abelha sem ferrão *M. quadrifasciata* (mandaçaia) e por fim (4) investigar  
2489 como o aumento do número de abelhas forrageiras incrementa a visitação nas duas  
2490 cultivares. Como hipóteses, temos que (1) com base em observações preliminares em  
2491 campo e dado as possíveis diferenças de atributos florais, haverá preferência da abelha  
2492 em visitar as flores da cultivar Italiano; (2) a cultivar Italiano possuirá flores de maior  
2493 tamanho, com maior quantidade de pólen, enquanto a cultivar Cereja possuirá maior  
2494 número de flores por inflorescência, (3) os voláteis florais mais atrativos serão àqueles da  
2495 cultivar mais visitada em casa de vegetação (*i.e.* Italiano), e (4) devido a diferenças na  
2496 densidade de flores entre cultivares, o incremento no número de abelhas forrageiras  
2497 aumentará o número de visitas em ambas cultivares de forma diferenciada, alcançando  
2498 maior percentual de flores visitadas na cultivar Italiano comparado a cultivar Cereja.

2499

## 2500 4.3 MATERIAL E MÉTODOS

2501

### 2502 4.3.1 Local de estudo

2503 Os experimentos de campo foram conduzidos em condições de plantio comercial  
2504 em uma casa de vegetação na Fazenda Malunga, localizada no Núcleo Rural Lamarão,  
2505 PAD-DF, Distrito Federal, Brasil (15°58'24"S; 47°29'23"W) em dezembro de 2020 e  
2506 setembro de 2021. A casa de vegetação utilizada possui cerca de 3.212 m<sup>2</sup> de área plantada  
2507 e 4.332 m<sup>2</sup> de área total (58,80 x 74 m), 5,80 metros de altura de pé direito, e 8,70 metros  
2508 de altura na parte mais alta. A estufa é coberta no teto com filme plástico de polietileno  
2509 difusor de luz com 150 micras de espessura da marca GINEGAR com transmitância da  
2510 luz na faixa do ultravioleta (UV: 365 nm) de 10,24%, e telada nas laterais com uma tela

2511 branca com cerca de 0,40 mm de abertura de malha. Ademais, esta estufa possui um  
2512 mecanismo para reduzir a temperatura por meio de um sistema de ventilação no teto  
2513 (também chamado de janela sanitária).

2514 A área de plantio da estufa foi adubada a partir de uma mistura de compostos  
2515 naturais de origem vegetal e animal, permitidos pela legislação orgânica local (*e.g.* torta  
2516 de mamona, farinha de sangue bovino, gesso, KP fértil, pó de serragem, e carvão). Para  
2517 o controle de pragas, foram aplicados produtos químicos de base biológica por  
2518 pulverização, sendo eles: Azamax (Azadiractina A/B), Dipel (*Bacillus thuringiensis*),  
2519 Kumulus (Enxofre), Supera (Hidróxido de cobre) e Xentari (*Bacillus thuringiensis*  
2520 *aizawai*) (SILVA, 2016). Entre estes, o produto Azamax possui em sua formulação, o  
2521 composto derivado do nim (Azadiractina), conhecido por ter efeitos subletais sobre as  
2522 abelhas (MENDONÇA *et al.*, 2022). Desta forma, orientou-se os produtores a aplicarem  
2523 em períodos de menor atividade das abelhas forrageiras nas flores (entre 11:00 - 16:00)  
2524 de forma a reduzir o impacto sobre elas.

2525 Parte da caracterização dos atributos florais (morfometria e contagem de flores  
2526 por inflorescência) foi feita em campo, enquanto que a identificação da quantidade de  
2527 grãos de pólen e avaliação da refletância das partes florais, e os experimentos envolvendo  
2528 os voláteis das flores foi feita no Laboratório de Ecologia e Biossegurança e no  
2529 Laboratório de Ecologia Química da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
2530 durante os períodos de julho de 2021 e entre junho e julho de 2022.

2531

#### 2532 **4.3.2 Espécie de abelha alvo do estudo**

2533 A espécie *M. quadrifasciata*, conhecida popularmente como mandaçaia, é  
2534 considerada uma abelha de médio porte (ca. 10 mm) do gênero *Melipona*, que contém as  
2535 maiores abelhas sem ferrão dentro da tribo Meliponini. Sua distribuição natural ocorre  
2536 sobretudo em formações florestais ao longo da costa Atlântica, do Rio Grande do Sul até  
2537 Pernambuco (MENZEL *et al.*, 1989). Costumam nidificar em cavidades ocas de árvores,  
2538 galhos, em ninhos de barro abandonados ou até mesmo no solo. As colônias desta espécie  
2539 podem variar de 300 até 1500 indivíduos (MICHENER, 1974). A mandaçaia é uma  
2540 espécie menos tolerante a climas muito quentes, tendo pico atividade nas primeiras horas  
2541 do dia, e temperaturas que podem variar entre 12 – 22°C, com base em dados obtidos em  
2542 São Paulo e Distrito Federal (GUIBU; IMPERATRIZ-FONSECA, 1984; MAIA-SILVA  
2543 *et al.*, 2014; dados relatados no Capítulo 2).

2544

### 2545 **4.3.3 Cultivares de tomateiro avaliadas**

2546 Para estes estudos, selecionou-se duas cultivares de tomateiro: Cereja (híbrido  
2547 sweet grape, empresa Sakata) e Italiano (híbrido graziane, empresa Sakata). Durante o  
2548 período dos experimentos, foram plantadas 1.976 mudas de tomateiro Italiano e 2.052  
2549 mudas de Cereja em um total de 26 e 27 canteiros, respectivamente, com 38 metros de  
2550 comprimento e 0,5 metros de largura cada um, respectivamente. O espaçamento entre as  
2551 linhas era de cerca de um metro, e entre plantas, de 25 cm com fileiras simples. Ambas  
2552 cultivares foram submetidas ao mesmo sistema de manejo, incluindo período de plantio,  
2553 uso de adubos orgânicos, sistema de irrigação por gotejamento, e retirada de brotos.  
2554 Ambas cultivares selecionadas são conhecidas por possuir um sistema de crescimento  
2555 indeterminado, e portanto, eram suspensas verticalmente pelo uso de fitilhos de condução,  
2556 reduzindo o contato das flores e frutos com o solo e podadas até atingir a altura de cerca  
2557 de 3 metros. A escolha destas duas cultivares se deu por sua importância econômica e  
2558 ampla demanda por produção no Brasil (CONAB, 2019), além de apresentarem possíveis  
2559 diferenças morfológicas relacionadas ao número e tamanho das flores por indivíduo e  
2560 variações no grau de dependência da polinização (BAPTISTELA, 2013).

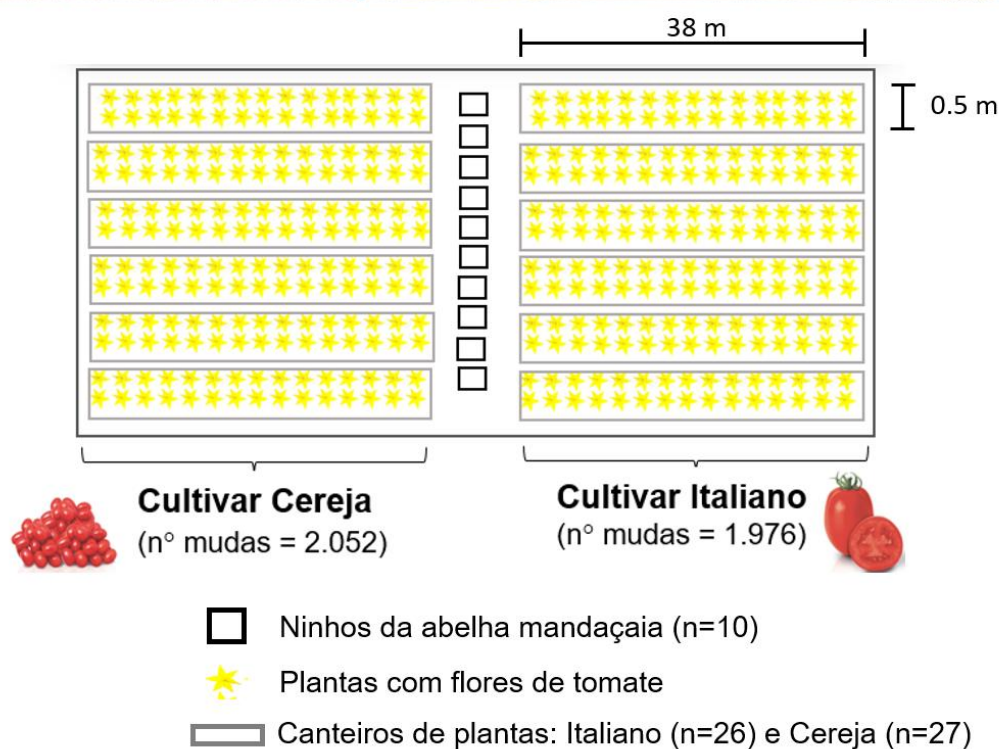
2561

### 2562 **4.3.4 Avaliação da preferência de *M. quadrifasciata* por flores de diferentes** 2563 **cultivares de tomateiro em casa de vegetação**

2564 Para testar a hipótese de que diferentes atributos florais afetam a visitação por  
2565 abelhas polinizadoras, avaliou-se se, de fato, há preferência na escolha da abelha para a  
2566 visitação de flores de diferentes cultivares do tomateiro. Para isto, foram instalados dez  
2567 ninhos de *M. quadrifasciata* na parte central da casa de vegetação, mantendo distâncias  
2568 semelhantes entre os canteiros de cada cultivar, conforme ilustrado no esquema da figura  
2569 1. A distância entre os ninhos foi de pelo menos 0,5 metros. Estes foram condicionados  
2570 em suportes de metal, cobertos com isopor e palha para reduzir a temperatura e proteger  
2571 da incidência do sol. Todos os ninhos utilizados no experimento eram previamente  
2572 avaliados quanto ao estado de saúde, onde se observava a presença de discos de cria,  
2573 presença e atividade da rainha, postura de ovos (discos maduros ou verdes), presença de  
2574 potes de pólen e mel e ainda, o fluxo de forrageiras. Somente ninhos saudáveis foram  
2575 utilizados nos experimentos.



2576 As observações de visitação das abelhas às flores foram feitas a partir de pelo  
 2577 menos quatro dias após a instalação dos ninhos, permitindo uma maior aclimatação das  
 2578 abelhas ao ambiente da estufa. Embora alguns trabalhos relatem períodos mais longos de  
 2579 aclimatação desta espécie de 15 (DEL SARTO *et al.*, 2005) e 28 dias (MEYRELLES,  
 2580 2013), observações preliminares indicaram que as forrageiras de mandaçaia nas  
 2581 condições da estufa avaliada na Fazenda Malunga, DF, passavam a forragear com maior  
 2582 frequência nas flores a partir do quarto dia de confinamento. Uma vez que as flores do  
 2583 tomateiro não oferecem néctar como recurso, as colônias foram alimentadas  
 2584 semanalmente no interior dos ninhos com xarope de açúcar e água (70% de açúcar).  
 2585 Também foram distribuídos pratos de isopor contendo água próximo aos suportes onde  
 2586 estavam os ninhos ou ainda, suspensos por fitilhos.  
 2587



2588

2589 Figura 1 – Esquema indicando a distribuição dos canteiros plantados com as  
 2590 cultivares Cereja e Italiano de tomateiro (*Lycopersicon. esculentum*) e distribuição

2591 central dos ninhos de abelhas em uma estufa de cerca de 3.212 m<sup>2</sup> de área plantada e  
2592 4.332 m<sup>2</sup> de área total (58,80 x 74 m), 5,80 metros de altura de pé direito, e 8,70 metros  
2593 de altura na parte mais alta. A estufa é coberta no teto com filme plástico de polietileno  
2594 difusor de luz com 150 micras de espessura da marca GINEGAR com transmitância da  
2595 luz na faixa do ultravioleta (UV: 365 nm) de 10,24%, e telada nas laterais com uma tela  
2596 branca com cerca de 0,40 mm de abertura de malha, instalada na Fazenda Malunga,  
2597 Distrito Federal.

2598

2599       Para confirmar se houve preferência das abelhas por uma das cultivares do  
2600 tomateiro, foram feitas observações baseadas em dois experimentos distintos: no primeiro  
2601 experimento, foram registradas visitas às flores por meio do método de observação direta  
2602 das abelhas nas flores e no segundo experimento, amostramos o número de flores com  
2603 marcações deixadas pelas abelhas durante o comportamento de coleta de pólen nas duas  
2604 cultivares. O experimento 1 ocorreu em dezembro de 2020, onde observamos diretamente  
2605 as abelhas nas flores, caminhando entre os canteiros e quantificando o número de flores  
2606 visitadas pelas abelhas durante 10 dias consecutivos durante o pico da floração. As  
2607 observações foram feitas ao longo de oito horas diárias (40 minutos de observação por  
2608 hora) pela manhã (08:00-12:00) e final da tarde (14:00-18:00) para as duas cultivares,  
2609 totalizando 640 minutos de observação em cada cultivar. Uma vez que o número de flores  
2610 recém-abertas por dia à visitação das abelhas variava entre os cultivares e ao longo do  
2611 ciclo do tomateiro, semanalmente foram feitas estimativas do número de flores recém-  
2612 abertas à visitação das abelhas por metro linear para cada cultivar. Por meio de um sorteio,  
2613 foram selecionadas plantas em cada canteiro (número total de plantas por cultivar = 70)  
2614 e quantificados o número de flores abertas por planta, visando obter o número médio de  
2615 flores por indivíduo. Por fim, a partir do número de plantas por metro linear (n= 4),  
2616 multiplicou-se o número de canteiros de tomateiro pelo comprimento de cada canteiro  
2617 visando obter o número total de plantas de cada cultivar (Tabela 1). A partir dos dados de  
2618 número de visitas registrados, dividiu-se pelo número de flores por distância percorrida  
2619 em cada período de observação e assim, obteve-se o número de visitas das forrageiras de  
2620 mandaçaia pelo número de flores.

2621

2622 Tabela 1 – Estimativa do número de flores recém-abertas à visitação das abelhas por  
2623 metro linear das duas cultivares do tomateiro (*Lycopersicum. esculentum*) no experimento  
2624 1 durante duas semanas de observação.

| <b>Cultivar</b> | <b>Semana de observação</b> | <b>Comprimento total de canteiros (em metro linear) (n°canteiros*comprimento de um canteiro)</b> | <b>Número total de flores por cultivar</b> | <b>N° médio de flores / metro linear</b> |
|-----------------|-----------------------------|--|--|--|
| Cereja          | Semana 1                    | 1.026  | 131.328                                    | 128                                      |
| Cereja          | Semana 2                    | 1.026  | 90.288                                     | 88                                       |
| Italiano        | Semana 1                    | 988  | 15.960                                     | 20                                       |
| Italiano        | Semana 2                    | 988  | 12.768                                     | 16                                       |

2625

2626 O segundo experimento envolvendo a avaliação da preferência da abelha  
2627 mandaçãia por flores de uma das cultivares do tomateiro ocorreu em setembro de 2021 e  
2628 consistiu em contabilizar o número flores marcadas após a visitaçã das forrageiras  
2629 (Figura 2). Durante o ciclo referente a este experimento, foram plantados 26 canteiros da  
2630 cultivar Italiano e 27, da cultivar Cereja. Ao realizar o comportamento de coleta do pólen  
2631 por vibraçã nas flores do tomateiro (*i.e. buzz pollination*), as abelhas mandaçãia deixam  
2632 marcas (necroses no tecido) ao se prenderem no tubo poricida com a mandíbula  
2633 (MORANDIN *et al.*, 2001; MORSE *et al.*, 2012). As marcas deixadas pelas abelhas nas  
2634 flores foram utilizadas como indicador da visitaçã e foram amostradas em 150 plantas  
2635 de tomateiro Cereja e 78 plantas de Italiano, por duas semanas. Nossa unidade amostral,  
2636 portanto, foi a planta. O número total de indivíduos amostrados foi calculado a partir do  
2637 número médio de plantas por canteiro para cada cultivar. As plantas amostradas foram  
2638 selecionadas nos diferentes canteiros de cada cultivar em diferentes posições, formando  
2639 uma diagonal. Esta distribuiçã visou selecionar indivíduos da borda e centro dos  
2640 canteiros, evitando qualquer viés de escolha. Em cada indivíduo amostrado, foi  
2641 quantificado o número de flores marcadas e não marcadas. Com isto, obteve-se o número  
2642 total de flores de cada planta. Por meio deste dado, a cada semana, calculou-se o número  
2643 médio de flores por indivíduo e assim, calculou-se o número de marcas por flor. Foram  
2644 quantificadas apenas flores abertas à visitaçã das abelhas. Para avaliar se o número  
2645 médio de visitas ou flores marcadas diferiu entre cultivares, foi aplicado um teste t ou  
2646 Mann-Whitney (W), em caso de dados não paramétricos. Para avaliaçã do pressuposto  
2647 de normalidade, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk



2648

2649 Figura 2 – Estruturas da flor de tomateiro, *Lycopersicum. Esculentum*. Antera poricida  
 2650 com marcas de necrose no tecido (circuladas em vermelho) deixadas pela abelha  
 2651 mandaçaia ao visitá-la. Fonte: Daniel Daldegan.

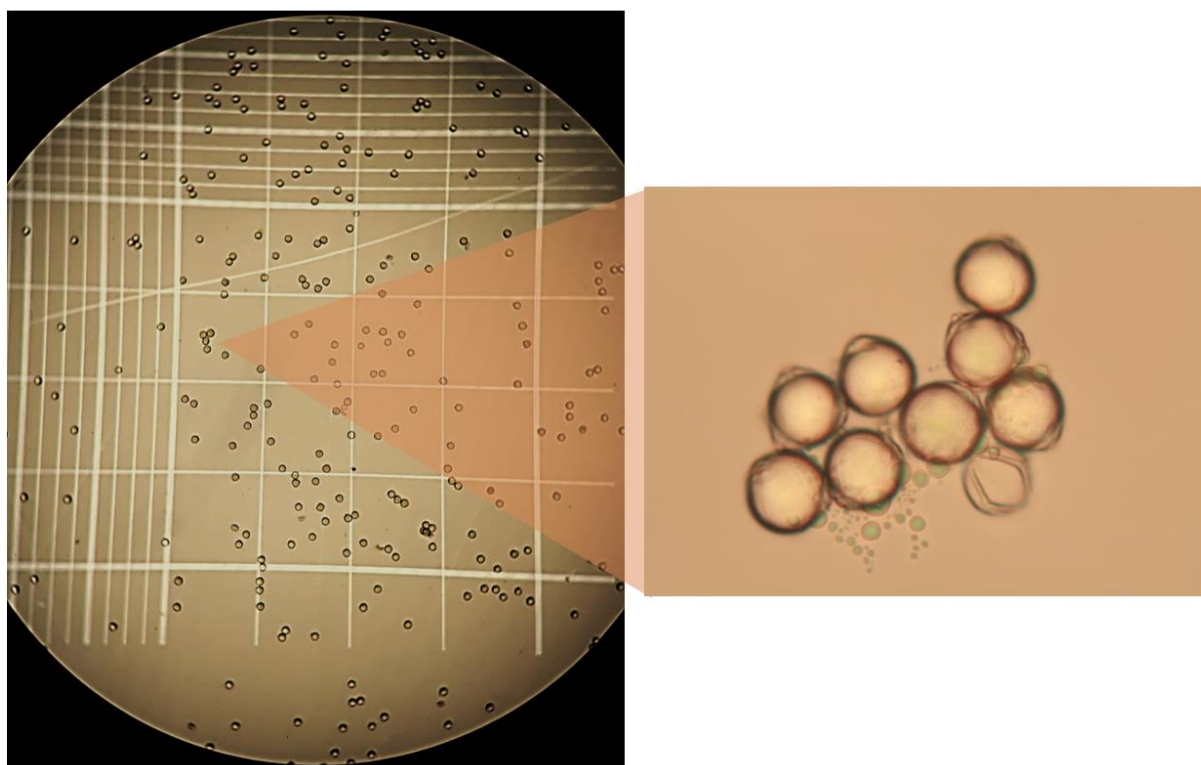
2652

#### 2653 4.3.5 Caracterização dos atributos florais dos cultivares do tomateiro

2654 A caracterização de atributos florais de cada cultivar do tomateiro foi feita  
 2655 avaliando-se: (1) número e morfometria de flores, (2) a produção de recurso floral (*i.e.* n°  
 2656 de grãos de pólen) e o (3) padrão de refletância das estruturas florais. Para a identificação  
 2657 do número de flores por inflorescência e morfometria das flores, 50 botões florais (um  
 2658 botão floral por planta) de cada cultivar foram previamente marcados e ensacados. Uma  
 2659 vez que plantas de crescimento indeterminado podem reduzir o investimento reprodutivo  
 2660 ao longo do ciclo (VICENTE *et al.*, 2015), padronizou-se pela marcação dos primeiros  
 2661 botões florais (1- 4° botão) da quinta inflorescência. Após a antese das flores marcadas,  
 2662 estas foram desensacadas, e todas as flores da inflorescência, incluindo os botões florais,  
 2663 foram contabilizados, visando obter o número de flores por inflorescência. As flores  
 2664 marcadas foram então destacadas da planta na base do pecíolo, e logo em seguida, foram  
 2665 tomadas as medidas do número de pétalas, sépalas, estames, comprimento da corola (cm),  
 2666 comprimento e largura do tubo poricida (cm) ainda em campo, com o auxílio de um  
 2667 paquímetro, marca Mitutoyo.

2668 A produção de recurso floral foi feita por meio da contagem de grãos de pólen  
 2669 produzidos pelas flores do tomateiro. Para isto, foram marcados e ensacados 30 botões  
 2670 florais de diferentes plantas de cada cultivar, seguindo os mesmos critérios de escolha das  
 2671 flores medidas anteriormente. No dia da coleta, as flores recém-abertas foram  
 2672 desensacadas e armazenadas em tubo eppendorf de 1.5 ml contendo álcool 70%. Em

2673 laboratório, foi feito um corte entre os estames para raspagem dos grãos de pólen das  
2674 anteras, a contagem do número de anteras e posterior recolocação no tubo eppendorf. A  
2675 contagem de grãos de pólen foi feita em microscópio (Figura 3), marca Leica  
2676 Microsystems, por meio de um protocolo adaptado para contagem de células sanguíneas,  
2677 usando a câmara de Neubauer (Anexo 1). Para obter o número de grãos de pólen por flor,  
2678 multiplicou-se o número de grãos de pólen contados pelo volume da suspensão original  
2679 (1ml) e pelo número de anteras da flor amostrada. Para comparar se o número de flores  
2680 por inflorescência, as medidas morfométricas e o número de grãos de pólen difere entre  
2681 flores dos diferentes cultivares, foi feito um teste t. Em caso de não cumprimento dos  
2682 pressupostos, foi feito um teste de Mann-Whitney. Para avaliação do pressuposto de  
2683 normalidade, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk  
2684



2685  
2686 Figura 3 – Visualização de grãos de pólen do tomateiro, *Lycopersicum. esculentum*, em  
2687 Câmara de Neubauer obtida a partir de câmera acoplada ao microscópio Leica  
2688 Microsystems. Fonte: Daniel Daldegan.

2689

2690 Para avaliar o espectro de refletância das estruturas florais do tomateiro, foram  
2691 retiradas três flores de plantas de cada cultivar trazidas da Fazenda Malunga e mantidas  
2692 em estufas na Embrapa, e tomadas três medidas das flores de ambas cultivares. As

2693 medidas foram feitas usando uma sonda de fibra óptica bifurcada (R-400-7-UV-VIS,  
2694 Ocean Optics), conectada a um espectrofotômetro (USB2000 +UV-VIS-ES, Ocean  
2695 Optics) calibrado entre 300 e 700 nm incidindo a luz sobre um recipiente com padrão  
2696 branco difuso (BaSO<sub>4</sub>). As medições foram feitas posicionando a sonda bem próximo a  
2697 estrutura de interesse, em um ângulo de 90° em relação a superfície que estava sendo  
2698 medida. As leituras da curva de refletância entre 300 - 650 nanômetros (nm) de diferentes  
2699 partes da flor, incluindo a pétala e tubo poricida, assim como da folha de diferentes plantas  
2700 de ambas cultivares, foram feitas no programa Ocean View 1.6.7. A iluminação na faixa  
2701 do UV-VIS foi fornecida com uma fonte de luz de xenônio pulsado (PX-2, 220-750 nm,  
2702 Ocean Optics). Para visualização do padrão de refletância, foram registradas fotos das  
2703 flores de ambas cultivares utilizando a câmera da marca EOS Rebel SL2 - Canon, com  
2704 lente Pixco Nikon M42-M42/M, com ou sem filtro UV da marca Hoya U360 (UV) IR  
2705 52mm/2mm. Durante o registro fotográfico, as flores foram iluminadas com lâmpada  
2706 fluorescente da marca OSRAM DULUX S Blue UVA- 9w, que emite luz na faixa do UV,  
2707 posicionada a cerca de 10 cm das flores.

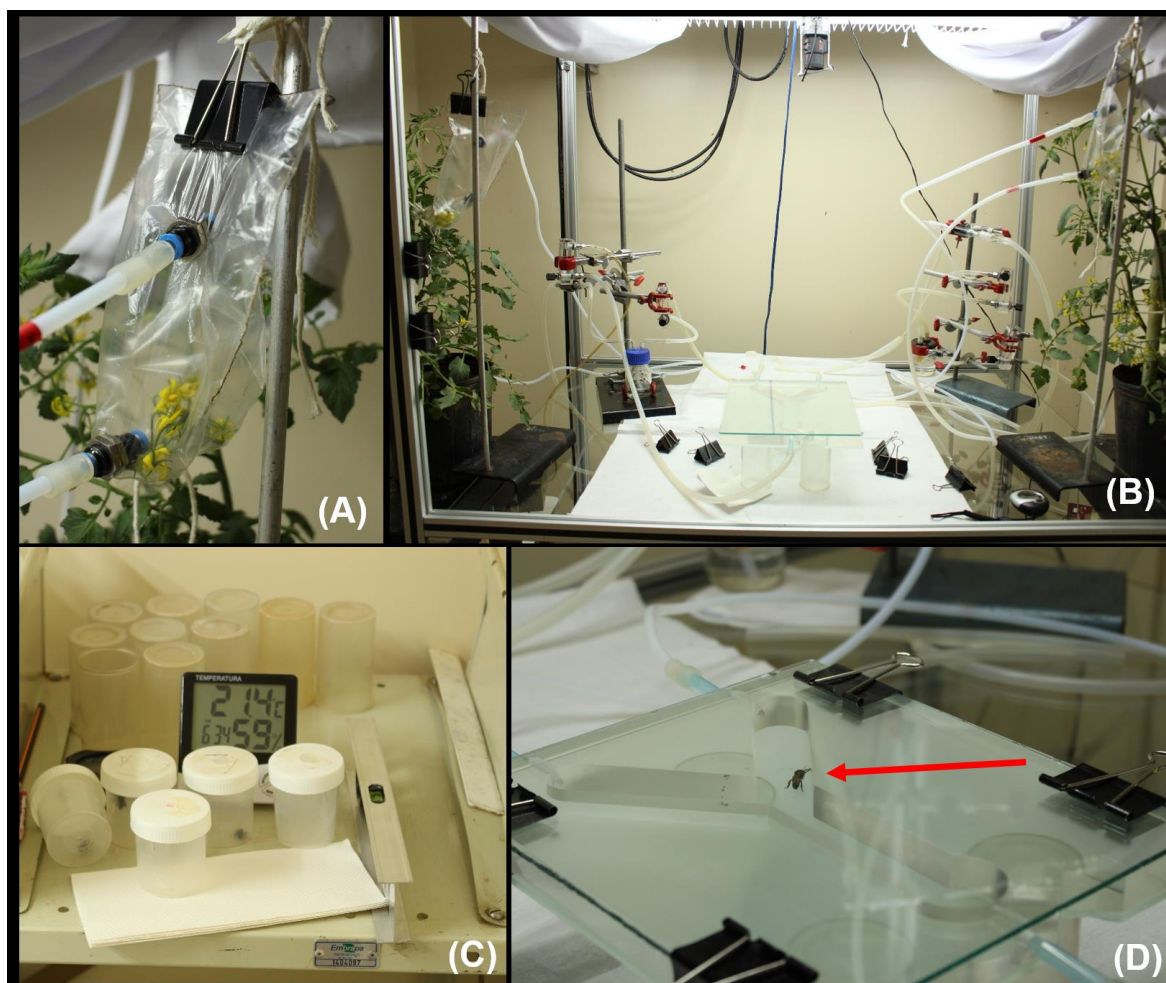
2708         Foi realizada ainda uma avaliação dos espectros refletidos pelas diferentes partes  
2709 florais (pétalas e tubo poricida) das diferentes cultivares de *L. esculentum* através do  
2710 modelo hexagonal de percepção cromática (CHITTKA, 1992) com base nas curvas de  
2711 absorção espectral dos fotorreceptores de himenópteros (PEITSCH *et al.*, 1992). Este  
2712 modelo foi utilizado para avaliar se os espectros refletidos pelas partes florais são  
2713 discriminados pelas abelhas. No hexágono, cada locus de cor plotado refere-se à posição  
2714 angular e a distância perceptiva da estrutura floral em relação ao centro do hexágono,  
2715 normalmente representado pela refletancia da folhagem de fundo (*i.e.* background). Cada  
2716 vértice do hexágono representa uma faixa de luz absorvida na visão tricromática da abelha  
2717 (UV, azul e verde) ou a combinação destes (UV-azul, UV-verde e azul-verde). Desta  
2718 forma, quanto maior a distância perceptual ( $\Delta S$ ) do centro, maior será o contraste da cor  
2719 em relação ao fundo. De igual modo, maiores distâncias entre duas cores no hexágono  
2720 indicam maior contraste entre elas. De acordo com Dyer *et al* (2012), em estudo feito  
2721 com *A. mellifera*, observou-se que valores de  $\Delta S$  maiores ou iguais a 0,11 são suficientes  
2722 para perceber diferenças de cromaticidade das estruturas, enquanto que valores de  $\Delta S$   
2723 menores que 0,04 são indistinguíveis.

2724

#### 2725 **4.3.6 Voláteis florais e comportamento das forrageiras de *M. quadrifasciata***

2726 Para avaliar se os voláteis liberados pelas flores do tomateiro tinham algum efeito  
2727 sobre o comportamento das forrageiras de *M. quadrifasciata*, foram conduzidos  
2728 experimentos comportamentais em um olfatômetro em “Y”. O olfatômetro em “Y” era  
2729 constituído de uma placa de acrílico (26 x 23 cm), com uma cavidade em forma de “Y”,  
2730 corpo de 120 mm e braços de 105 mm e largura de cerca de 12 mm, mantida entre dois  
2731 vidros de quatro mm de mesmas dimensões, prensados por cliques de papel (MORAES *et*  
2732 *al.*, 2005). Inflorescências com flores de plantas do tomateiro foram ensacadas com sacos  
2733 plásticos de poliéster (Oven Bags, Reynolds, Lake Forest, II, EUA) com a extremidade  
2734 fechada com barbante e conectadas a cada braço do olfatômetro através de mangueiras de  
2735 teflon (Figura 4). Antes de serem usados, os sacos foram virados ao avesso, armazenados  
2736 e limpos em estufa por pelo menos 40 minutos a 100°C. O ar conduzido para o interior  
2737 do olfatômetro foi filtrado em carvão ativado, umidificado e regulado por fluxômetros.  
2738 Para o escoamento do ar, uma bomba de sucção foi posicionada no extremo oposto à  
2739 entrada de ar e regulada com fluxo de 0,8 L/min. O olfatômetro era iluminado na parte  
2740 superior por lâmpadas fluorescentes (60 W), com intensidade luminosa de 514 lux.

2741



2742

2743 Figura 4 – (A) Ensacamento de inflorescências contendo flores do tomateiro  
 2744 (*Lycopersicum. esculentum*) em bioensaios com forrageiras de *M. quadrifasciata*; (B)  
 2745 Estrutura completa dos experimentos envolvendo o olfatômetro em “Y”; (C) Abelhas  
 2746 forrageiras de *M. quadrifasciata* armazenadas individualmente em potes de plástico após  
 2747 observação em bioensaio; (D) Abelha que se deslocou para um dos lados do olfatômetro  
 2748 em “Y” (indicado pela seta vermelha). Fonte: Daniel Daldegan.

2749

2750 Os primeiros bioensaios foram feitos durante o mês de julho de 2021, em sala  
 2751 climatizada ( $21,12^{\circ}\text{C} \pm 1,38$  de temperatura e  $50,5\% \pm 4,50$  de umidade relativa) entre  
 2752 08:00 e 13:00 horas. Para isto, foram selecionadas 32 plantas com flores das duas  
 2753 cultivares que estavam sendo mantidas em estufa na Fazenda Malunga. Todas as plantas  
 2754 foram submetidas ao mesmo tipo de adubação e manejo. Após o aparecimento das  
 2755 primeiras flores, estas plantas foram transplantadas para vasos de cinco litros (Nutriplan,  
 2756 Brasil) e mantidas em estufa na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Só foram  
 2757 utilizadas nos bioensaios plantas saudáveis, sem registro de dano mecânico ou ataque de



2758 insetos-praga ou doenças. Cada planta era utilizada em cinco bioensaios conduzidos no  
2759 mesmo dia. Em junho de 2022, repetiu-se os mesmos experimentos. Porém, uma vez que  
2760 os voláteis da parte vegetativa também podem ter influência sobre a percepção dos odores  
2761 florais para insetos (SCALA *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2016) estes testes foram feitos  
2762 ensacando a parte reprodutiva e vegetativa das plantas.

2763 As abelhas, provenientes de ninhos mantidos no Meliponário da Embrapa  
2764 Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram coletadas individualmente no início da manhã  
2765 (entre 07:30 e 09:00) em potes plásticos com furos para troca de ar. Estas foram colocadas  
2766 em estufa B.O.D (Biochemical oxygen demand chamber), Eletrolab, mantida a 28.1°C e  
2767 70% de umidade relativa. Estas permaneceram na estufa por pelo menos 15 minutos e só  
2768 eram retiradas no momento do bioensaio no olfatômetro. Após as observações, as abelhas  
2769 foram colocadas em congelador por aproximadamente 40s e marcadas com tinta branca  
2770 à base de água na região do tórax e posteriormente liberadas. Este procedimento foi  
2771 necessário para evitar a coleta de abelhas já observadas, garantindo a independência dos  
2772 dados. Não foram utilizadas nos bioensaios abelhas que apresentavam algum  
2773 comportamento letárgico. Nestes casos, o indivíduo era substituído.

2774 Foram avaliados os seguintes tratamentos: corrente de ar (AR - controle); odor de  
2775 flores da cultivar Italiano (ITA) e odor de flores da cultivar Cereja (CE). Estes foram  
2776 pareados nos seguintes experimentos: (1) Ar vs. Ar, (2) Ar vs. Ita, (3) Ar vs. Ce e (4) Ce  
2777 vs. Ita. Em 2021, em cada experimento foram feitos 40 bioensaios, totalizando 160  
2778 abelhas observadas. Já em 2022, um total 120 bioensaios foram observados (30 por  
2779 experimento). Foram feitos 20 bioensaios por dia, sendo 5 por experimento. Procurou-se  
2780 fazer um rodízio na ordem dos experimentos ao longo dos dias. Ao início de cada  
2781 experimento, eram registrados dados meteorológicos de temperatura, umidade, bem como  
2782 o horário de início das observações.

2783 Em cada bioensaio, foi avaliado o comportamento das abelhas ao longo de 5  
2784 minutos com base em três parâmetros: tempo de residência, primeira escolha e número  
2785 de escolhas. O tempo de residência se refere ao tempo, em segundos, que a abelha  
2786 permanecia em cada um dos braços do olfatômetro ao longo do período de observação.  
2787 Considerou-se como a primeira escolha o primeiro deslocamento feito pela abelha a um  
2788 dos braços após o início do bioensaio. Por fim, o número de escolhas refere-se à  
2789 quantidade de vezes que a abelha se deslocava para cada um dos braços do olfatômetro.  
2790 A avaliação do tempo de residência e número de escolhas entre tratamentos foi feita por  
2791 meio de teste t pareado (t) ou teste de Wilcoxon (V), para dados não paramétricos. Para

2792 avaliação do pressuposto de normalidade, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Já o  
2793 parâmetro de primeira escolha foi testado usando teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Todas as  
2794 análises foram feitas no programa R, versão 4.2.0.

2795

#### 2796 **4.3.7 Avaliação da influência do aumento do número de abelhas forrageiras** 2797 **sobre a visitação em flores das cultivares**

2798 Para avaliar o efeito do aumento de caixas de abelhas *M. quadrifasciata* sobre a  
2799 visitação às flores das cultivares do tomateiro, foram introduzidas na mesma estufa  
2800 avaliada anteriormente, durante o pico de floração, três caixas de abelhas por semana, ao  
2801 longo de seis semanas, totalizando 18 caixas ao final de 42 dias. Este experimento ocorreu  
2802 entre os meses de janeiro e fevereiro de 2022. Ao longo de cada semana, foram  
2803 amostradas 135 plantas da cultivar Cereja, 78 da cultivar Italiano, e contabilizadas o  
2804 número de marcas deixadas nas flores pela abelha manducaia como *proxy* da visitação. O  
2805 número de plantas amostradas foi obtido a partir do valor médio de plantas por canteiro  
2806 de cada uma das cultivares. A seleção das plantas ocorreu da mesma forma que o descrito  
2807 para o experimento 2. O intervalo entre amostragens foi de 7-8 dias, para que as abelhas  
2808 provenientes dos ninhos introduzidos em cada semana tivessem tempo para se aclimatar  
2809 as condições da estufa e assim, realizar a atividade de visita as flores até a amostragem  
2810 seguinte. A partir do número de flores marcadas e não marcadas, obteve-se o valor total  
2811 de flores amostradas, permitindo assim, calcular o percentual do número de flores com  
2812 marcas para cada semana. Estes dados foram plotados utilizando o programa SigmaPlot,  
2813 versão 10.1.

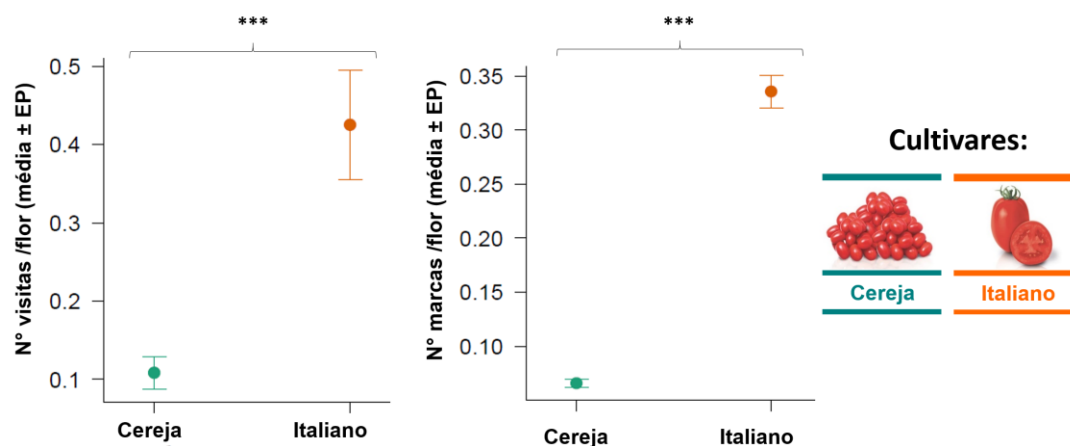
2814

### 2815 **4.4 RESULTADOS**

#### 2816 **4.4.1 Avaliação da preferência de *M. quadrifasciata* por flores de diferentes** 2817 **cultivares de tomateiro em casa de vegetação**

2818 Por meio dos experimentos de observação direta das abelhas nas flores,  
2819 confirmou-se que as forrageiras de *M. quadrifasciata* sempre visitaram mais as flores do  
2820 cultivar Italiano ( $W = 2172,5$ ,  $p < 0,001$ ). No experimento envolvendo visitação em  
2821 flores, observou-se que o número de visitas por flor da cultivar Italiano foi cerca de quatro  
2822 vezes maior ( $0,42 \pm 0,06$ ) do que nas flores da cultivar Cereja ( $0,10 \pm 0,02$ ). No  
2823 experimento onde avaliou-se as marcas deixadas pelas abelhas nas flores, observou-se

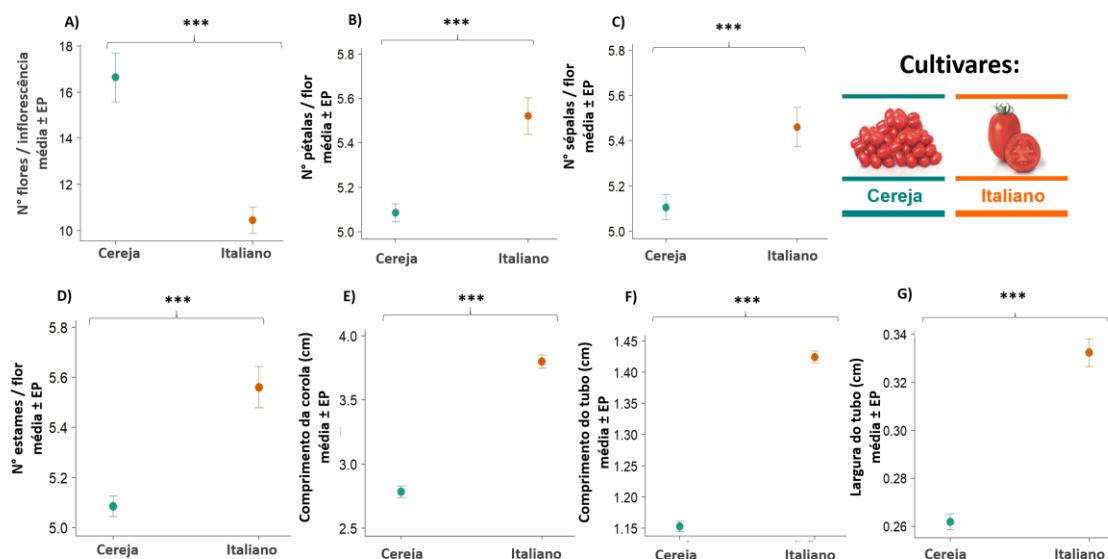
2824 que a cada 100 flores, 33 flores da cultivar Italiano apresentaram marcas ( $0,33 \pm 0,01$ ),  
 2825 enquanto que na cultivar Cereja, este valor foi de somente 6 flores ( $0,06 \pm 0,00$ ) (Figura  
 2826 5).  
 2827



2828  
 2829 Figura 5 – Número médio de visitas por flor (a esquerda) e número médio de marcas  
 2830 deixadas pelas abelhas na flor (a direita) registrado em experimentos de preferência para  
 2831 duas cultivares de tomateiro, *Lycopersicum. esculentum*. Pontos representam valores  
 2832 médios e barras de erro referem-se a erro padrão (EP). “\*\*\*” valor de  $p < 0,001$   
 2833

#### 2834 4.4.2 Caracterização dos atributos florais das cultivares do tomateiro

2835 As flores da cultivar Italiano registraram um número médio maior de pétalas,  
 2836 sépalas e estames, bem como maior comprimento médio das pétalas e largura do tubo  
 2837 poricida ( $p < 0,001$ ) do que as flores da cultivar Cereja. O número médio de flores por  
 2838 inflorescência, porém, foi maior na cultivar Cereja ( $16,63 \pm 1,05$ ) comparado ao Italiano  
 2839 ( $10,44 \pm 0,57$ ) ( $W = 1848$ ,  $p < 0,001$ ) (Figura 6).  
 2840



2841

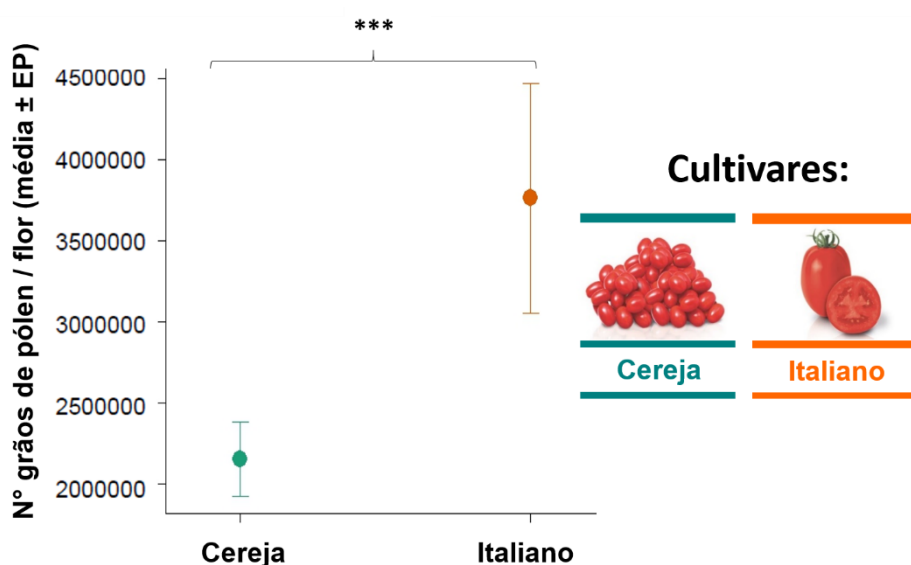
2842 Figura 6 – Número de flores por inflorescência (A), número de pétalas (B), sépalas (C),  
 2843 estames (D) por flor, comprimento da corola (E) e tubo (F) e largura do tubo (G) entre  
 2844 cultivares Italiano e Cereja de tomateiro, *Lycopersicum. esculentum*. Pontos representam  
 2845 valores médios e barras de erro referem-se a erro padrão (EP). “\*\*\*” valor de  $p < 0,001$

2846

2847

2848 O número médio de grãos de pólen em flores da cultivar Italiano foi de  $3,76 \times 10^6$   
 2849  $\pm 719.414$ , cerca de 75% maior ( $W = 559$ ,  $p = 0.006$ ) quando comparado à cultivar Cereja  
 2850 ( $2,15 \times 10^6 \pm 228.930$ ) (Figura 7).

2851



2852

2853 Figura 7 - Número de grãos de pólen por flor para as cultivares Italiano e Cereja de  
2854 tomateiro (*Lycopersicon. esculentum*). Pontos representam valores médios e barras de  
2855 erro referem-se a erro padrão (EP). “\*\*\*\*” valor de  $p < 0,001$

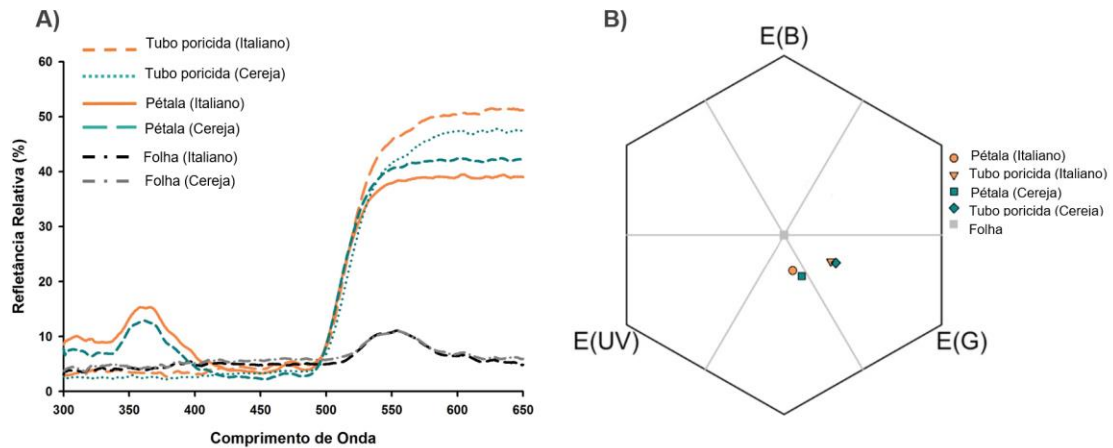
2856

2857 Por meio das medições de refletância nas flores e folhas das cultivares de  
2858 tomateiro Italiano e Cereja, observou-se diferentes padrões na região do UV (300-400  
2859 nm) de acordo com a estrutura avaliada, mas aparentemente, não houveram diferenças  
2860 entre as cultivares. As únicas partes da flor que apresentaram refletância na região do UV  
2861 foram as pétalas, com pico em torno de 360 nm para as duas cultivares (Figura 8A). Tanto  
2862 o tubo poricida quanto a pétala alcançaram o platô a partir da região do verde (~540 nm).  
2863 Quanto ao espectro de refletância das folhas de ambas cultivares, com coloração verde  
2864 aos olhos humanos, observou-se um pequeno pico apenas na região do verde (~550 nm).

2865 O modelo hexagonal para a visão tricromática de abelhas mostrou que na visão  
2866 das abelhas, as cores das estruturas florais são cromaticamente contrastantes em relação  
2867 a folhagem, representado no centro do hexágono ( $\Delta S > 0,24$ , Figura 8B). Da mesma  
2868 forma, as abelhas conseguem diferenciar a cor das pétalas em relação ao tubo ( $\Delta S > 0,21$ ),  
2869 onde o primeiro é visto pela combinação dos receptores UV-verde, enquanto o segundo  
2870 é visto apenas pelo receptor verde. Os tubos de ambas cultivares são equivalentes para as  
2871 abelhas por possuem praticamente a mesma coloração, representado pela alta  
2872 sobreposição na Figura 8B ( $\Delta S = 0,03$ ). Da mesma forma, as pétalas de ambas cultivares  
2873 apresentam a mesma cor para os olhos das abelhas ( $\Delta S > 0,07$ , Figura 8B). As pétalas e  
2874 tubo poricida de ambas cultivares apresentam coloração amarelada aos olhos humanos  
2875 (Figura 9A) e a refletância na faixa do UV nas pétalas é observada apenas nas margens  
2876 das pétalas (Figura 9B).

2877

2878

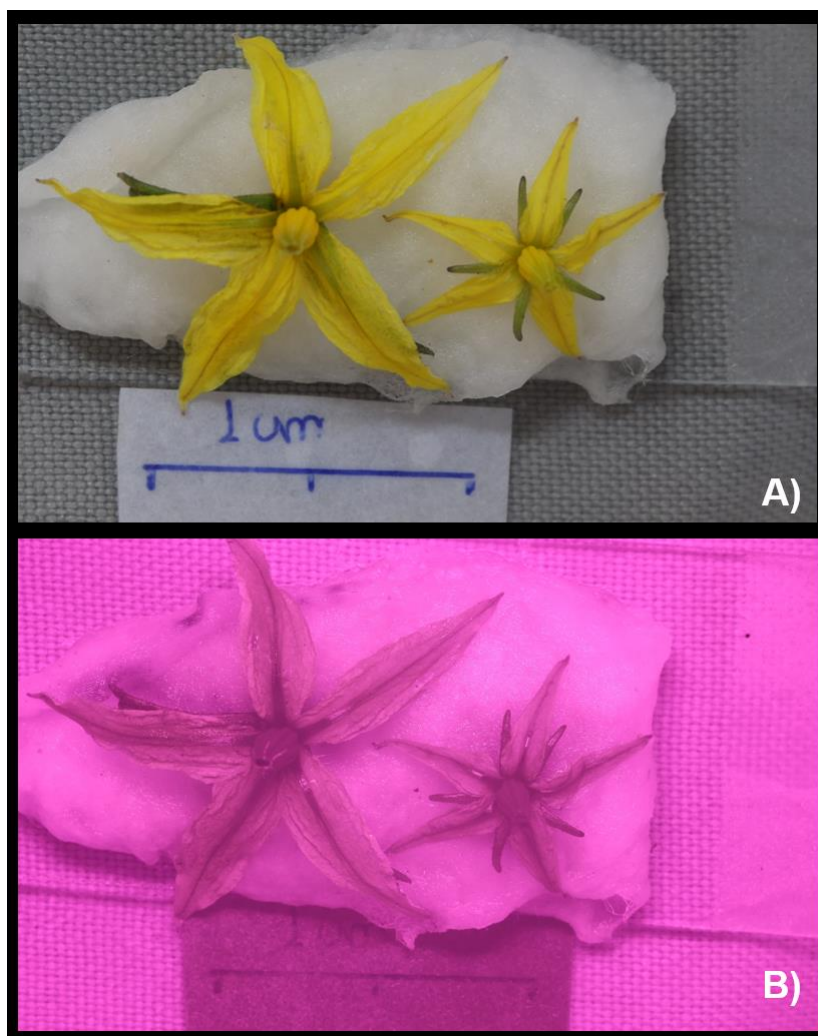


2879

2880

2881 Figura 8 - (A) Refletância espectral relativa de estruturas florais e folhas de  
 2882 *Lycopersicum Sculentum* nas cultivares Italiano e Cereja ao longo do comprimento de  
 2883 onda (nanômetros). Curvas referem-se aos espectros de refletância relativa média do  
 2884 tubo poricida (Italiano = linha laranja tracejada; Cereja = linha verde pontilhada),  
 2885 pétalas (Italiano = linha laranja contínua; Cereja = linha verde tracejada), e folhas  
 2886 (Italiano = linha preta; Cereja = linha cinza). (B) Distâncias perceptuais de estruturas  
 2887 florais de *Lycopersicum Sculentum* no modelo de hexágono para himenópteros  
 2888 tricromáticos. Os cantos dos hexágonos representam a excitação (E) da curva de  
 2889 absorção dos três receptores de abelhas para o verde (G), ultravioleta (UV), e azul (B).  
 2890 Os cantos sem indicação de letras referem-se a possíveis combinações entre os  
 2891 receptores (UVB, UVG e BG). O centro da figura representa a refletância do fundo  
 2892 (folhagem = “+” cinza) para as estruturas florais (pétala Italiano = círculo laranja,  
 2893 tubo Italiano = triângulo laranja, pétala Cereja = quadrado verde, tubo Cereja =  
 2894 losângulo verde). A distância entre os pontos indica o quão semelhantes as cores são  
 2895 para as abelhas

2896



2897  
 2898 Figura 9 - Imagens de flores de *Lycopersicum sculentum* da cultivar Italiano (a esquerda)  
 2899 e Cereja (a direita) registradas com câmera fotográfica Canon EOS Rebel SL2 sem (A)  
 2900 ou com filtro UV (B) da marca Hoya U-360 (UV) IR 52/2mm. As partes claras da flor  
 2901 refletem na faixa do UV. As partes escuras, por outro lado, absorvem nesta faixa de luz.  
 2902 Fonte: Sofia Coradini.

2903

#### 2904 4.4.3 Voláteis florais e comportamento das forrageiras de *M. quadrifasciata*

2905 Os bioensaios em olfatômetro em “Y” mostraram que não houveram diferenças  
 2906 no tempo de residência entre tratamentos em nenhum dos dois experimentos conduzidos,  
 2907 (2021 e 2022). Em 2021, houve diferenças no número de primeira escolha entre  
 2908 tratamentos. No experimento Ar vs. Ar (AA), 60% das abelhas foram primeiramente para  
 2909 o braço direito do olfatômetro ( $p = 0,04$ ). No experimento Ar vs. Italiano (AITA), 75%  
 2910 foram primeiramente para o lado contendo voláteis de flores da cultivar Italiano ( $p <$   
 2911  $0,01$ ). Por fim, no experimento que pareou as duas cultivares (Ita vs. Ce - ITACE), a

2912 proporção de primeira escolha também foi maior (62,5%) para o lado contendo os voláteis  
 2913 florais da cultivar Italiano ( $p < 0,05$ ). No segundo experimento, observou-se que as  
 2914 abelhas se orientaram com maior frequência para o braço do olfatômetro com ar quando  
 2915 pareado com o braço contendo voláteis das flores e folhas do tomateiro Italiano ou do  
 2916 Cereja ( $p < 0,001$ ) (Tabela 2). Quanto aos registros de primeira escolha neste segundo  
 2917 experimento, houve diferença significativa apenas no experimento Ar vs. Ita, onde a  
 2918 maior proporção de primeira escolha ocorreu no braço com tratamento Ar (70%) quando  
 2919 comparado ao braço com odor de tomate Italiano ( $p < 0,001$ ).

2920

2921 Tabela 2 – Orientação da abelha manducaia (*M. quadrifasciata*) em olfatômetro em “Y”  
 2922 por voláteis oriundos da parte reprodutiva (experimento 1) ou este associado a parte  
 2923 vegetativa (experimento 2) de plantas de tomateiro (ver detalhes do olfatômetro na  
 2924 figura 4). Foram medidos os seguintes parâmetros comportamentais: tempo de  
 2925 residência, número de escolhas e primeira escolha. “\*” = valor de  $p < 0,05$ ; “\*\*” = valor  
 2926 de  $p < 0,01$ ; “\*\*\*” = valor de  $p < 0,001$

2927

| Ano                               | Experimentos                     | Tratamentos   | Parâmetros comportamentais                  |                                     |                            |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------|---|-------------------------------------|----------------------------|
|                                   |                                  |               | Tempo de<br>residência (seg.)<br>Média ± EP | Número de<br>escolhas<br>Média ± EP | Primeira<br>escolha<br>(%) |
| 2021                              | Ar vs. Ar (AA)<br>(n = 40)       | Ar (esquerda) | 91,52 ± 4,42                                | 09,05 ± 0,64                        | 16                         |
|                                   |                                  | Ar (direita)  | 89,17 ± 3,76                                | 10,00 ± 0,64                        | 24*                        |
|                                   | Ar vs. Ita<br>(AITA)<br>(n = 40) | Ar            | 85,17 ± 4,86                                | 7,92 ± 0,74                         | 14                         |
|                                   |                                  | Italiano      | 83,00 ± 5,06                                | 7,12 ± 0,66                         | 26**                       |
|                                   | Ar vs. Ce (ACE)<br>(n = 40)      | Ar            | 90,10 ± 6,26                                | 7,55 ± 0,66                         | 23                         |
|                                   |                                  | Cereja        | 89,12 ± 6,76                                | 6,80 ± 0,62                         | 17                         |
| Ita vs. Ce<br>(ITACE)<br>(n = 40) | Italiano                         | 92,35 ± 6,85  | 8,20 ± 0,61                                 | 25*                                 |                            |
|                                   | Cereja                           | 85,25 ± 7,16  | 8,05 ± 0,64                                 | 15                                  |                            |



|             |                                   |               |               |                 |       |
|-------------|-----------------------------------|---------------|---------------|-----------------|-------|
| <b>2022</b> | Ar vs. Ar (AA)<br>(n = 30)        | Ar (esquerda) | 96,96 ± 3,94  | 11,63 ± 0,84    | 16    |
|             |                                   | Ar (direita)  | 83,40 ± 5,87  | 12,16 ± 1,01    | 14    |
|             | Ar vs. Ita<br>(AITA)<br>(n = 30)  | Ar            | 96,30 ± 7,85  | 11,26 ± 1,14*** | 21*** |
|             |                                   | Italiano      | 70,56 ± 10,50 | 7,26 ± 0,84     | 9     |
|             | Ar vs. Ce (ACE)<br>(n = 30)       | Ar            | 91,36 ± 5,96  | 10,83 ± 1,02*** | 17    |
|             |                                   | Cereja        | 78,36 ± 8,04  | 8,60 ± 0,82     | 13    |
|             | Ita vs. Ce<br>(ITACE)<br>(n = 30) | Italiano      | 88,8 ± 4,85   | 10,73 ± 0,93    | 13    |
|             |                                   | Cereja        | 90,4 ± 4,52   | 10,86 ± 1,03    | 17    |

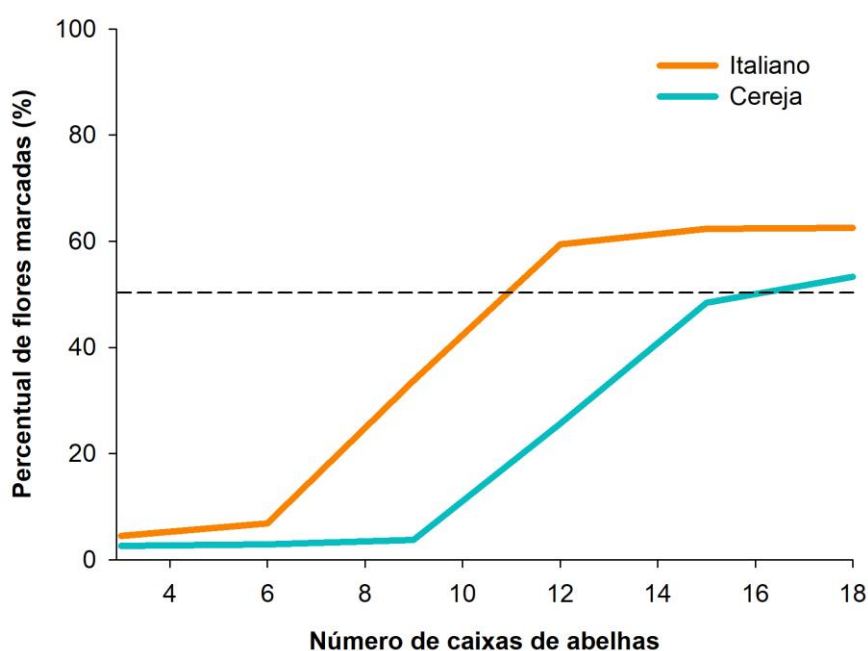
2928

#### 2929 **4.4.4 Avaliação da influência do aumento do número de abelhas forrageiras**

2930 **sobre a visitação em flores das cultivares**

2931 O número total de flores amostradas por cultivar variou entre 1.013 para 24 flores  
 2932 entre a primeira e última semana de observação, configurando o fim do ciclo de floração  
 2933 na cultivar Italiano. Da mesma forma, na cultivar Cereja, este número oscilou de 5.091 a  
 2934 332 flores. O aumento no número de caixas de abelhas (n = 18) elevou o número de visitas  
 2935 às flores de ambas cultivares. Para a cultivar Italiano, houve um aumento expressivo de  
 2936 visitas a partir da inserção de seis caixas (2<sup>o</sup> semana de observação), chegando a 50% das  
 2937 flores visitadas entre nove e 12 caixas. A partir da quarta semana, com 12 caixas de  
 2938 abelhas, o percentual de visitas chegou 60%, mas estabilizou até a inserção de 18 caixas.  
 2939 Já para a cultivar Cereja, houve um aumento expressivo de visitas a partir da inserção de  
 2940 nove caixas (3<sup>o</sup> semana de observação). Somente após a inserção do dobro de caixas (n =  
 2941 18), obteve-se uma visitação acima de 50%, com tendência de aumento (Figura 10).

2942



2943

2944 Figura 20 – Percentual de flores marcadas (*proxy* de visitação) de duas cultivares de  
 2945 tomateiro com o aumento do número de caixas de abelhas *M. quadrfasciata* em estufa ao  
 2946 longo das semanas de observação. Linha azul representa a cultivar Cereja enquanto que  
 2947 a linha laranjada representa a cultivar Italiano. Linha tracejada indica o percentual de 50%  
 2948 de flores marcadas.

2949

2950

#### 2951 4.5 DISCUSSÃO

2952 Este estudo avaliou se existe preferência por parte da abelha *Melipona*  
 2953 *quadrifasciata* entre flores de duas cultivares de tomateiro mantidas em estufas. Nossos  
 2954 resultados mostraram que as forrageiras de *M. quadrifasciata* visitaram mais as flores da  
 2955 cultivar Italiano comparado à cultivar Cereja. As análises morfométricas mostraram que  
 2956 as flores da cultivar Italiano são maiores, e apresentam maior quantidade de grãos de  
 2957 pólen por flor. Na cultivar Cereja, porém, o número médio de flores por indivíduo foi  
 2958 maior. As pétalas das flores de ambas cultivares refletem na faixa de luz UV, mas não  
 2959 foram encontradas diferenças no padrão de reflectância das partes florais e folhas, nem  
 2960 na cromaticidade das pétalas entre cultivares. Embora não tenha sido possível estabelecer  
 2961 uma relação de causa e efeito, sugere-se que as diferenças encontradas nos atributos  
 2962 florais entre as cultivares avaliadas tenham contribuído para as diferenças observadas na  
 2963 frequência de visitas em flores entre cultivares.

2964 A maior visitação nas flores de uma das cultivares de tomateiro pode ser explicada  
2965 pelo princípio da otimização na busca de recursos, também denominado de teoria do  
2966 forrageamento ótimo. Proposto inicialmente MacArthur e Pianka (1966), e aperfeiçoado  
2967 posteriormente por Krebs e Davies (1978), tal princípio está baseado em modelos teóricos  
2968 e matemáticos que procuram realizar uma análise entre custos e benefícios para os  
2969 indivíduos na busca de alimentos (ARAÚJO; LOPES, 2009). Sob a ótica da interação  
2970 inseto-planta, a obtenção de maior ganho líquido com menor gasto energético dependerá  
2971 de diversos fatores. As plantas podem reduzir seu gasto e otimizar o seu benefício atraindo  
2972 os visitantes que melhor contribuem para seu sucesso reprodutivo. Já para o visitante  
2973 floral, uma redução dos custos de forrageamento ocorrerá quanto menor for o tempo gasto  
2974 no deslocamento para a flor e na manipulação dela (RECH *et al.*, 2014). Na cultivar  
2975 Italiano, mais visitada pela abelha mandaçaia, observou-se, por exemplo, que embora  
2976 houvesse menor quantidade de flores por área plantada, havia maior quantidade de  
2977 recurso por flor, podendo assim ter reduzido o tempo gasto no deslocamento e  
2978 manipulação das abelhas às flores comparado a visita às flores da cultivar Cereja. Tal  
2979 relação, portanto, pode ser influenciada por meio de um ou mais atributos florais, a fim  
2980 de suprir a necessidade de alimentação, reprodução ou construção de ninho (RECH *et al.*,  
2981 2014).

2982 Em nosso estudo, observou-se diferenças no display floral, no tamanho das  
2983 estruturas florais, e na quantidade de recurso. O número de flores por inflorescência (*i.e.*  
2984 display floral) variou entre cultivares, sendo cerca de 59% maior na cultivar Cereja em  
2985 comparação a cultivar Italiano. Embora estudos indiquem que inflorescências com maior  
2986 número de flores tendem a atrair mais polinizadores (AUGSPURGER, 1980;  
2987 MITCHELL *et al.*, 2004), isto não foi observado em nosso estudo. Lobo *et al.* (2016), por  
2988 exemplo, avaliaram o efeito floração massiva em diferentes populações de ipê amarelo  
2989 (*Tabebuia aurea* Silva Manso, Bignoniaceae) sobre a abundância e diversidade de  
2990 polinizadores em área urbana. Os autores observaram que a relação entre o número de  
2991 visitas e o display floral pode variar de acordo com o tamanho da inflorescência e da  
2992 planta, sendo que no nível da inflorescência, a frequência de visitação reduziu em  
2993 inflorescências maiores (> 25 flores), com a maior parte das visitas sendo registradas em  
2994 1-3 flores por inflorescência. Tal efeito de “diluição” de visitas com o aumento da  
2995 densidade de flores da inflorescência pode reduzir o sucesso reprodutivo de flores  
2996 individuais (BULLOCK *et al.*, 1989), e ser resultante de uma diferença na alocação de

2997 recursos florais entre flores de uma mesma inflorescência por parte da planta (LOBO *et*  
2998 *al.*, 2016).

2999 Uma vez que as flores da cultivar Italiano continuam, em média, cerca de 75% a  
3000 mais de grãos de pólen, é provável que a maior taxa de visitação nas flores desta cultivar  
3001 seja decorrente do menor gasto energético dispendido pelas abelhas forrageiras na busca  
3002 por recurso ao visitá-las (*i.e.* menor número de visitas por flor). O pólen é considerado a  
3003 principal fonte de recurso proteico para as abelhas, constituído também por lipídeos,  
3004 amido, outros açúcares, fósforo, vitaminas e água (WILLMER, 2011). Em particular, as  
3005 flores do tomateiro são também conhecidas como flores de pólen por terem o pólen como  
3006 único recurso floral oferecido, e pela presença de anteras com deiscência poricida. Além  
3007 do aspecto quantitativo, a qualidade do pólen produzido também tem sido apontada como  
3008 fator importante para a saúde e desenvolvimento adequado das abelhas e a atividade de  
3009 forrageio em *Apis mellifera* (DI PASQUALE *et al.*, 2013; PERNAL; CURRIE, 2001).  
3010 Uma vez que podem haver diferenças na qualidade do pólen produzido entre cultivares  
3011 da mesma espécie, estudos futuros que relacionem a visitação por abelhas com qualidade  
3012 do pólen produzido são necessários e poderão nos ajudar a compreender melhor possíveis  
3013 preferências das abelhas entre diferentes cultivares.

3014 A cor e odor também são tidos como atributos florais de grande importância no  
3015 processo de atração do visitante floral (RECH *et al.*, 2014). A cor, além de contribuir para  
3016 a atração, possui outras funções ecológicas, como contribuir para o comportamento de  
3017 constância floral (CHITKA *et al.*, 2001), ou favorecer a visitação de grupos específicos  
3018 de polinizadores (FAEGRI; PIJL, 1971). Aliado a cor, diferentes padrões de reflectância  
3019 de luz ultravioleta (UV) na superfície das estruturas florais também podem estar  
3020 associados a tais preferências (KOSKI; ASHMAN, 2013). Em nosso estudo, observou-se  
3021 que as pétalas das flores do tomateiro refletem a luz na faixa do UV, conforme já indicado  
3022 em outros estudos (DYER; CHITKA, 2004). Contudo, não foram observados padrões  
3023 de reflectância diferentes entre cultivares com base nas curvas de reflectância e no modelo  
3024 de hexágono, o que sugere que este fator não influenciou a preferência da *M.*  
3025 *quadrifasciata* pelas flores da cultivar Italiano.

3026 Os primeiros bioensaios em olfatómetro em “Y” feitos neste estudo buscaram  
3027 identificar se os voláteis florais produzidos pelas cultivares avaliadas poderiam afetar a  
3028 escolha das forrageiras de *M. quadrifasciata*. No primeiro experimento, pareceu haver  
3029 uma tendência das abelhas a irem com maior frequência para o lado contendo o odor de  
3030 flores da cultivar Italiano quando pareado com o tratamento “Ar” ou “Cereja”, com base

3031 no parâmetro de primeira escolha (ver tabela 2). Contudo, também identificou-se uma  
3032 maior orientação das abelhas para o lado direito do olfatômetro no experimento  
3033 envolvendo o pareamento de Ar vs. Ar (controle). Tal resultado invalidou todas as demais  
3034 observações, uma vez que não se pôde mais afirmar que a maior orientação para um dos  
3035 lados na presença da cultivar Italiano seria consequência da atração pelos voláteis florais  
3036 liberados por esta cultivar. Estudos que utilizam abelhas para avaliação de sua atração ou  
3037 repelência por voláteis em olfatômetro em “Y” são bastante escassos. Nosso estudo é o  
3038 primeiro que se tem registro testando uma espécie de abelha sem ferrão em um  
3039 olfatômetro em “Y”.

3040 O primeiro estudo conhecido com abelhas em olfatômetro em “Y” com dimensões  
3041 similares a que utilizamos (20 mm diâmetro; 90 e 170 mm de comprimento dos braços e  
3042 corpo, respectivamente) foi feito na China por Zhang *et al* (2016) testando a atração ou  
3043 repelência por voláteis de *Elsholtzia rugulosa* Hemsl nas espécies *Apis mellifera* e  
3044 *Bombus* sp. Os autores observaram que *A. mellifera* foi atraída pelos voláteis florais,  
3045 enquanto que a espécie de *Bombus* mostrou repelência aos mesmos voláteis. Os estudos  
3046 envolvendo voláteis e abelhas costumam ser feitos utilizando outras abordagens  
3047 metodológicas, como àqueles conduzidos em campo (FERNANDES *et al.*, 2019), estufas  
3048 (MORSE *et al.*, 2012) ou ainda em laboratório usando a avaliação da resposta de extensão  
3049 da probóscide (REP) (PALOTTINI *et al.*, 2018). Os resultados de Zhang *et al* (2016),  
3050 porém, indicam que a metodologia envolvendo o uso de abelhas em olfatômetro em “Y”  
3051 também pode ser promissora para uso de abelhas sem ferrão. Em outro estudo mais  
3052 recente feito por Zhang *et al* (2020), também na China, avaliando a resposta de *A.*  
3053 *mellifera* e *Bombus lantschouensis* aos voláteis florais de tomateiro, observou-se que as  
3054 abelhas testadas em olfatômetro em “Y” só responderam aos odores florais quando  
3055 passavam por uma experiência prévia de aprendizado onde associa-se o volátil produzido  
3056 pelas flores a uma recompensa alimentar. Tais resultados indicam que a experiência  
3057 prévia com recompensa alimentar parece ser um elemento fundamental para determinar  
3058 preferência de abelhas as flores do tomateiro. Estudos futuros utilizando esta mesma  
3059 metodologia com abelhas sem ferrão seriam de extrema importância, uma vez que  
3060 ajudarão no melhor entendimento da relação dos odores desta cultivar com a visitação  
3061 por estas abelhas.

3062 No experimento 2, avaliou-se não só os voláteis florais do tomateiro, mas também  
3063 àqueles produzidos pela parte vegetativa da planta, uma vez que também pode produzir  
3064 compostos voláteis que sejam atrativos para as abelhas (SCALA *et al.*, 2013; ZHANG *et*

3065 *al.*, 2016). Apesar de não termos visto uma alteração no experimento envolvendo o  
3066 tratamento controle (Ar vs. Ar), houve o registro de maior número de escolhas para o lado  
3067 contendo apenas a corrente de ar (i.e. tratamento “Ar”), quando pareado com voláteis de  
3068 ambas cultivares (Ar vs. Ita e Ar vs. Cer.), resultado oposto ao que esperávamos. Para  
3069 algumas cultivares do tomateiro, já foi registrado a produção de compostos tidos como  
3070 repelentes ( $\beta$ -feladreno e 2-careno) para espécies de abelhas (*Bombus impatiens* Cresson)  
3071 (MORSE *et al.*, 2012). Ao estudarem as cultivares Bigdena e Clarence de tomateiro, estes  
3072 autores observaram que o pico de liberação destes compostos repelentes estaria associado  
3073 a flores que foram mais visitadas (com marcas deixadas pelas abelhas). Em nosso estudo,  
3074 porém, é pouco provável que as abelhas tenham tido uma aversão aos voláteis das flores  
3075 e folhas de ambas cultivares, uma vez que as plantas utilizadas permaneciam confinadas  
3076 em estufas em condições controladas, sem acesso prévio de visitantes florais e,  
3077 aparentemente, sem nenhum indício de doenças ou ataque por pragas, que poderia  
3078 desencadear uma liberação de voláteis anti-herbivoria (LUCAS-BARBOSA *et al.*, 2011).  
3079 Da mesma forma, não utilizou-se plantas que tivessem sofrido algum dano mecânico  
3080 recente durante o transporte e manipulação até o laboratório.

3081 Conforme esperado, o experimento envolvendo o aumento do número de caixas  
3082 de abelhas promoveu um incremento do número de visitas as flores pela abelha *M.*  
3083 *quadrifasciata* em ambas cultivares. O incremento da visitação com o aumento do  
3084 número de caixas de abelhas sem ferrão em estufas já foi observado ao dobrar a  
3085 quantidade de caixas da abelha jataí (*T. angustula*) na cultura do morangueiro  
3086 (ANTUNES *et al.*, 2007). Em nosso estudo, porém, este efeito foi menor a partir da quarta  
3087 semana de amostragem para a cultivar Italiano, quando praticamente estabilizou-se o  
3088 número de visitas após a inserção de 12 caixas de abelhas. Este resultado provavelmente  
3089 seja explicado pelo baixo número de flores viáveis observado nas últimas semanas de  
3090 observação nesta cultivar. O número total de flores amostradas na última semana de  
3091 observação chegou a 24, cerca de 0,3 flores por planta. A baixa densidade de recurso  
3092 distribuída no espaço e tempo nesta cultivar deve ter contribuído para uma redução da  
3093 atratividade e, conseqüentemente, da chance de encontro da abelha com as flores  
3094 remanescentes. Já na cultivar Cereja, o número total de flores amostradas na última  
3095 semana chegou a 332, na qual cerca de 53% destas foram visitadas. Esta foi a única  
3096 semana em que o número de flores visitadas foi superior ao de flores não visitadas em  
3097 nossa amostragem para esta cultivar, indicando mais uma vez que parece haver uma  
3098 competição entre as cultivares.

3099

## 3100 4.6 CONCLUSÕES

3101 Este estudo mostrou que a abelha mandaçaia visitou as flores de ambas cultivares  
 3102 de tomateiro produzidas comercialmente em estufas sob cultivo orgânico. Contudo,  
 3103 houve uma maior visitação desta abelha nas flores da cultivar Italiano. Com base na  
 3104 caracterização dos atributos florais e das diferenças encontradas entre cultivares, sugere-  
 3105 se que flores de tomateiro maiores e com maior quantidade de recuso são mais atrativas  
 3106 para as abelhas *M. quadrifasciata*, mesmo em menor densidade. Tais resultados sugerem  
 3107 a necessidade de diferentes medidas de manejo destas abelhas ao utilizá-las para o serviço  
 3108 de polinização para as cultivares avaliadas em uma mesma estufa. O aumento do número  
 3109 de caixas, por exemplo, pode ser uma alternativa visando incrementar o percentual de  
 3110 visitas às flores da cultivar Cereja. Considerando que talvez haja competição entre as  
 3111 cultivares, o plantio das mesmas em estufas separadas também pode ser testado afim de  
 3112 avaliar se haverá um incremento da visitação às flores da cultivar Cereja, sem  
 3113 necessariamente ter de aumentar o número de caixas de abelhas.

3114

## 3115 4.7 REFERÊNCIAS

3116 ANTUNES, O.T. *et al.* Produção de cultivares de morangueiro polinizadas pela abelha  
 3117 jataí em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, n. 25, 2007, p. 94-99.

3118 ARAÚJO, A.; LOPES, F.A. O que, quando, onde e com quem: decisões econômicas no  
 3119 comportamento alimentar. *In:* YAMAMOTO, M.A; VOLPATO, G.L. (Eds.).  
 3120 **Comportamento Animal**, 2009, p. 261-279.

3121 AUGSPURGER, C.K. Mass-flowering of a tropical shrub (*Hybanthus prunifolius*):  
 3122 influence on pollinator attraction and movement. **Evolution**, n. 34, 1980, p. 475-488.

3123 BAPTISTELLA, A.R.T. de O. **Uso e eficiência de abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponini) na polinização do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill. Solanaceae) sob cultivo protegido.** Tese de doutorado. Ribeirão Preto, 2013. 147p.

3126 BULLOCK, S.H.; DEL RIO, C.M.; AYALA, R. **Bee visitation rates to trees of *Prockia crucis* differing in flower number.** *Oecologia*, v. 78, 1989, p. 389-393.

3128 CEUPPENS, B. *et al.* Characterization of volatiles in strawberry varieties ‘Elsanta’ and  
 3129 ‘Sonata’ and their effect on bumblebee flower visiting. **Arthropod-Plant Interactions**,  
 3130 v. 9, n. 3, 2015, p. 281-287

3131 CHITTKA, L. The colour hexagon: a chromaticity diagram based on photoreceptor  
 3132 excitations as a generalized representation of colour opponency. **Journal of comparative physiology. A**, v. 170, 1992, p. 533-543.

- 3134 CHITTKA, L., *et al.* Adaptation, constraint, and chance in the evolution of flower color  
3135 and pollinator color vision. p. 106-126. *In:* CHITTKA L.; THOMSON, J.D. (eds.).  
3136 **Cognitive ecology of pollination: animal behaviour and floral evolution.** Cambridge,  
3137 Cambridge University Press, 2001, 344 pp.
- 3138 CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Tomate:** Análise dos  
3139 indicadores da produção e comercialização no mercado mundial, brasileiro e  
3140 catarinense. Companhia Nacional de Abastecimento. v. 21, 2019.
- 3141 DAFNI, A.; KEVAN, P.G. Flower size and shape: implications in pollination. **Israel**  
3142 **Journal of Plant Sciences**, v.45, n. 2-3, 1997, p. 201-211.
- 3143 DEL SARTO, M.C.L. *et al.* Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona*  
3144 *quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal**  
3145 **of Economic Entomology**, v.98, n. 2, 2005, p. 260-266.
- 3146 DI PASQUALE, G. *et al.* Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen  
3147 quality and diversity matter? **Plos One**, v.8, n. 8, 2013, p. 1-13.
- 3148 DYER, A. G., *et al.* Parallel evolution of angiosperm colour signals: common  
3149 evolutionary pressures linked to hymenopteran vision. **Proceedings of the Royal**  
3150 **Society B: Biological Sciences**, v.279, n. 1742, 2012, p. 3606-3615
- 3151 DYER, A.G.; CHITTKA, L. Bumblebee search time without ultraviolet light. **The**  
3152 **Journal of Experimental Biology**, v.207, 2004, p. 1683-1688.
- 3153 FAEGRI, K.; PIJL, L. VAN DER. The principles of pollination ecology. Oxford,  
3154 Pergamon Press, Hill Hall, 1971. 291 pp.
- 3155 FERNANDES, N.S. **Atração da abelha *Apis mellifera* a flores de cinco tipos**  
3156 **comerciais de meloeiro (*Cucumis melo*).** Tese de doutorado. Universidade Federal do  
3157 Ceará, 2017, 151. p.
- 3158 FERNANDES, N.S. Volatile organic compounds role in selective pollinator visits to  
3159 commercial melon types. **Journal of Agricultural Science**, v.11, n. 3, 2019, p. 93-108.
- 3160 GUIBU, L.S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Atividade externa de *Melipona*  
3161 *quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Ciê. e Cult.**, v.36  
3162 supl., n. 7, 1984, p. 623.
- 3163 KLATT, B.K. *et al.* Flower volatiles, crop varieties and bee responses. **PLoS ONE**, v.8,  
3164 n. 8, 2013, p. e72724
- 3165 KOSKI, M.H.; ASHMAN, T. Dissecting pollinator responses to a ubiquitous ultraviolet  
3166 floral pattern in the wild. **Functional Ecology**, v.28, 2014, p. 868-877.
- 3167 KREBS, J.R.; DAVIES, N.B. **Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach**,  
3168 Blackwell Scientific Publications, 1978.
- 3169 LOBO, J.A.; RAMOS, D. De L.; BRAGA, A.C. Visitation rate of pollinators and néctar  
3170 robbers to the flowers and inflorescences of *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae): effects of



- 3171 floral display size and habitat fragmentation. **Botanical Journal of The Linnean**  
3172 **Society**, 2016, p. 1-13.
- 3173 MACARTHUR, R.H.; PIANKA, E.R. On Optimal Use of a Patchy Environment. **The**  
3174 **American Naturalist**, v.100, n.916, 1966, p. 603–09.
- 3175 MAIA-SILVA, C., *et al.* Environmental Windows for foraging activity in stingless  
3176 bees, *Melipona subnitida* Ducke and *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera:  
3177 Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, v.61, n. 4, 2014, p. 378-385.
- 3178 MENDONÇA, A.J.T. *et al.* Toxicidade oral de inseticidas derivados do Nim sobre a  
3179 abelha africanizada *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Brazilian Journal of**  
3180 **Development**, v.8, n. 5, 2022, p. 40335-40345.
- 3181 MENZEL, R., *et al.* Spectral sensitivity of single photoreceptors and color vision in the  
3182 stingless bee, *Melipona quadrifasciata*. **J. Comp. Physiol. A.**, v.166, 1989, p. 151-164.  
3183 <https://doi.org/10.1007/BF00193460>
- 3184 MEYRELLES, B.G. **Polinização do tomate cereja por abelhas nativas em cultivo**  
3185 **protegido**. Dissertação de mestrado, 2013, pp. 46.
- 3186 MICHENER, C.D. **The social behavior of the bees**. Cambridge: Harvard University  
3187 Press, 1974.
- 3188 MITCHELL R.J., *et al.* The influence of *Mimulus ringens* floral display size on  
3189 pollinator visitation patterns. **Functional Ecology**, v. 18, 2004, p. 116–124
- 3190 MORAES, M.C.B. *et al.* Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificial  
3191 infested with the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the  
3192 egg parasitoid, *Telenomus podisi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 115,  
3193 2005, p. 227-237.
- 3194 MORANDIN, L. A.; LAVERTY, T. M.; KEVAN, P. G. Effect of bumblebee  
3195 (Hymenoptera: Apidae) pollination intensity on the quality of greenhouse tomatoes.  
3196 **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 1, 2001b, p. 172–179.
- 3197 MORSE, A. *et al.* The impact of greenhouse tomato (Solanales: Solanaceae) floral  
3198 volatiles on bumble bee (Hymenoptera: Apidae) pollination. **Plant-Insect Interactions**,  
3199 v.41, n. 4, 2012, p. 855- 864.
- 3200 PALOTTINI, F.; BARCALA, M.C.E.; FARINA, W.M. Odor learning and its  
3201 experience-dependent modulation in the South American native bumblebee *Bombus*  
3202 *atratus* (Hymenoptera: Apidae). **Frontiers in Psychology**, v. 9, 2018, p. 1-10.
- 3203 PEITSCH, D., *et al.* The spectral input systems of hymenopteran insects and their  
3204 receptor-based colour vision. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 170(1), 1992,  
3205 p. 23-40.
- 3206 PERNAL, S.F.; CURRIE, R.W. The influence of pollen quality on foraging behaviour  
3207 in honeybees (*Apis mellifera* L.). **Behav. Ecol. Sociobiol.**, v. 51, 2001, p. 53-68.

- 3208 RECH, A.R., *et al.* **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Revisora editorial Ceres  
3209 Belchior, 2014, pp. 527.
- 3210 SCALA, A. *et al.* Green leaf volatiles: A plant's multifunctional weapon against  
3211 herbivores and pathogens. **Int. J. Mol. Sci**, v. 14, n. 9, 2013, p. 17781-17811.
- 3212 SILVA, J.B.C. *et al.* Cultivo de tomate para Industrialização. **Embrapa Hortaliças**,  
3213 Sistemas de Produção, 2003, 1-2° ed.
- 3214 SILVA, J.O. **Catálogo de insumos naturais e biológicos para uso na agropecuária:**  
3215 **representantes e revendas no Distrito Federal e entorno**. Emater-DF, 2016, 40.p.
- 3216 VICENTE, M. H. *et al.* Semi-determinate growth habit adjusts the vegetative-to-  
3217 reproductive balance and increases productivity and water-use efficiency in tomato  
3218 (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Plant Physiology**, v. 177, 2015, p. 11–19.
- 3219 WILLMER, P. **Pollination and floral Ecology**. New Jersey, Princeton University Press,  
3220 2011.
- 3221 WRIGHT, G.A.; SCHIESTL, F.P. The evolution of floral scent: The influence of  
3222 olfactory learning by insect pollinators on the honest signalling of floral rewards.  
3223 **Functional Ecology**, v. 23, n.5, 2009, p. 841-851
- 3224 WRIGHT, G.A.; SKINNER, B.D.; SMITH, B.H. Ability of honeybee, *Apis mellifera*, to  
3225 detect and discriminate odors of varieties of canola (*Brassica rapa* and *Brassica napus*)  
3226 and snapdragon flowers (*Antirrhinum majus*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n.4,  
3227 2002, p. 721-740.
- 3228 ZHANG, *et al.* Prior experience with food reward influences the behavioral responses of  
3229 the honeybee *Apis mellifera* and the bumblebee *Bombus lantschouensis* to tomato floral  
3230 scent. **Insects**, v. 11, n. 884, 2020, p. 1-16.
- 3231 ZHANG, F. *et al.* Multiple functions of volatiles in flowers and leaves of *Elsholtzia*  
3232 *rugosa* (Lamiaceae) from southwestern China. **Scientific reports**, v. 6, n. 27616, 2016,  
3233 p. 1-6.
- 3234

3235 **5. CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO ECONÔMICA DA POLINIZAÇÃO**  
3236 **ASSISTIDA PELA ABELHA SEM FERRÃO, *MELIPONA***  
3237 ***QUADRIFASCIATA*, EM DUAS CULTIVARES DE TOMATEIRO,**  
3238 ***LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL (SOLANACEAE), EM SISTEMA**  
3239 **ORGÂNICO PROTEGIDO**

3240

3241

3242 5.1 RESUMO

3243 O tomateiro, *Lycopersicon esculentum* Mill (Solanaceae), é uma espécie polinizada pela  
3244 vibração de suas flores. A abelha mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*) faz parte de um  
3245 grupo de abelhas que realiza este comportamento (chamado de *buzz pollination*) atuando  
3246 como polinizador efetivo no momento da coleta do pólen. Têm-se testado o uso desta  
3247 abelha para polinização do tomateiro em estufas visando a melhoria da produção de  
3248 sementes e frutos. Contudo, pouco se sabe sobre o valor monetário associado ao serviço  
3249 de polinização prestado por estas abelhas, bem como por outros métodos de polinização  
3250 em função da produtividade do cultivo do tomateiro em ambientes protegidos. O objetivo  
3251 deste trabalho foi avaliar em duas cultivares de tomateiro, Italiano e Cereja, cultivados  
3252 organicamente em estufa (1) o efeito da polinização pela abelha *Melipona quadrifasciata*,  
3253 da polinização por soprador ou ainda pela associação de ambos sobre a produção do  
3254 tomateiro, (2) se o serviço de polinização pela abelha mandaçaia difere entre cultivares e  
3255 (3) investigar o valor econômico procurando entender qual das práticas de polinização  
3256 (polinização por soprador ou pelo uso de abelhas) é mais rentável para o produtor. Os  
3257 experimentos foram conduzidos na Fazenda Malunga - DF durante dois períodos, nos  
3258 anos de 2021 a 2022, em estufas de cerca 3.200 m<sup>2</sup> de área plantada e 5,80 metros de  
3259 altura de pé direito, onde foram cultivadas 2.028 e 3.645 mudas das cultivares Italiano e  
3260 Cereja, respectivamente. Para a maior parte dos parâmetros de qualidade dos frutos  
3261 avaliados, houve um incremento da produção nos tratamentos com polinização com  
3262 abelha (PM) ou esta associada ao soprador (PMPS). Contudo, houve diferenças entre as  
3263 cultivares avaliadas e entre os períodos de amostragem. Em geral, na cultivar Italiano,  
3264 houve maior incremento da qualidade dos frutos e maior produtividade pelos tratamentos  
3265 PMPS e PM enquanto que para a cultivar Cereja, o uso exclusivo do soprador (PS) ou  
3266 este associado a abelha teve maior importância. Estes resultados sugerem que há uma  
3267 diferença no grau de dependência de polinização por abelhas entre cultivares. Da mesma  
3268 forma, os dados econômicos mostraram que há um maior valor de produtividade e lucro

3269 atribuído para os tratamentos com abelha na cultivar Italiano, e com soprador, para a  
3270 cultivar Cereja. Os resultados confirmaram o potencial de uso da mandaçaia para o  
3271 aumento da produtividade e consequente ganho econômico do tomateiro em estufa  
3272 dependendo da cultivar.

3273

3274 **Palavras-chave:** Meliponíneo. Casa de vegetação. Estufa. Valoração.

3275

3276

## 3277 5.2 INTRODUÇÃO

3278 A polinização é considerada um serviço ecossistêmico essencial para a produção  
3279 de alimentos, uma vez que contribui para a reprodução sexual de plantas com flores  
3280 (RECH *et al.*, 2014). Sob o contexto agrícola, cerca de 85% das espécies cultiváveis são  
3281 beneficiadas, em algum nível, por este serviço (IPBES, 2016). Procurando avaliar o valor  
3282 econômico da polinização, Costanza *et al* (1997) foram os primeiros a estimar um valor  
3283 para este serviço em nível global. Recentemente, estimativas atribuíram ao serviço de  
3284 polinização, o valor de 235-577 bilhões de dólares em 2015 em todo o mundo (IPBES,  
3285 2016) e no Brasil, cerca de 12 bilhões de dólares ao ano (GIANNINI *et al.*, 2015). Entre  
3286 os animais provedores do serviço de polinização em sistemas agrícolas, destacam-se as  
3287 abelhas. Apenas no Brasil, a polinização por abelhas já foi registrada em mais de 90%  
3288 das plantas cultivadas no país. Tais benefícios têm sido obtidos tanto em sistemas de  
3289 produção abertos ou protegidos em todo o mundo (BPBES, 2019; KENDALL *et al.*,  
3290 2021). Os sistemas protegidos (*i.e.* casas de vegetação e/ou estufas) são bastante  
3291 diversificados, tanto em forma, tamanho ou material de cobertura e caracterizam-se por  
3292 reduzir o stress sobre as plantas cultivadas frente a condições ambientais adversas  
3293 (JAMES; PITTS-SINGER, 2008).

3294 A suplementação do serviço de polinização em sistemas protegidos já foi testada  
3295 a partir do uso de espécies de abelhas manejadas. Esta prática baseia-se na inserção de  
3296 caixas contendo enxames de abelhas manejadas no interior dos cultivos protegidos. No  
3297 mundo, abelhas do gênero *Bombus* estão entre as espécies mais utilizadas (SOWMYA *et*  
3298 *al.*, 2015; COOLEY; VALLEJO-MARIN, 2021). De acordo com Roubik (2018),  
3299 aproximadamente 95% da comercialização de *Bombus* é destinada a polinização do  
3300 tomateiro em cultivo protegido, movimentando um valor de 12 milhões de euros em 2006.  
3301 Já no Brasil, espécies de abelhas sem ferrão tem se mostrado promissoras como  
3302 polinizadores em cultivos protegidos, como por exemplo, *Tetragonisca angustula* no

3303 morangueiro (MALAGODI-BRAGA, 2002), *Melipona subnitida* no pimentão (CRUZ *et*  
3304 *al.*, 2005) e *Nannotrigona perilampoides* e *Melipona quadrifasciata* (BARTELLI *et al.*,  
3305 2014b; SILVA-NETO *et al.*, 2019; BISPO DOS SANTOS *et al.*, 2009) no tomateiro.  
3306 Contudo, a dificuldade de aclimatação das abelhas sem ferrão nos ambientes internos das  
3307 casas de vegetação devido aos modelos e materiais usados nestas estufas; a baixa  
3308 disponibilidade de colônias e a falta de conhecimento sobre a biologia e técnicas de  
3309 manejo adequadas para uso destes polinizadores nestes sistemas tem limitado a adoção  
3310 desta prática, que ainda é incipiente no país (GAGLIANONE *et al.*, 2015; NETO *et al.*,  
3311 2018).

3312 A falta de polinizadores em estufas agrícolas tem levado muitos produtores a  
3313 utilizar técnicas artificiais de polinização, que incluem a polinização manual, uso de spray  
3314 com pólen suspenso ou ainda de vibradores elétricos, visando substituir a polinização por  
3315 vibração feita por abelhas. Contudo, dados recentes em nível mundial têm indicado que  
3316 tais práticas são menos efetivas para o incremento da produção de algumas culturas, como  
3317 o tomateiro, em comparação ao serviço de polinização feito abelhas vibradoras  
3318 (COOLEY; VALLEJO-MARIN, 2021). Além disto, trabalhos sugerem que a aplicação  
3319 destes métodos tende a elevar os custos de produção (WESTERKAMP;  
3320 GOTTSBERGER, 2000). Segundo os autores, na Holanda, no ano de 1996, o custo  
3321 envolvendo o uso de vibradores elétricos para a polinização de 2.000 hectares de tomate  
3322 chegou a 30 milhões de dólares. No Brasil, uma das práticas de polinização artificial  
3323 utilizadas em sistemas protegidos tem sido o uso de sopradores (informações dadas pelos  
3324 produtores) mas pouco se sabe sobre a efetividade da mesma para o aumento da produção  
3325 e dos custos associados ao seu uso. Torna-se necessário, portanto, investigar o balanço  
3326 entre custos e benefícios associados ao uso destas práticas de suplementação da  
3327 polinização (*i.e.* vibração mecânica pelo soprador e a partir do manejo de abelhas  
3328 polinizadoras), visando entender qual destas reduz de forma mais eficiente o déficit de  
3329 polinização natural em plantas cultivadas em estufas e é mais rentável para o produtor.

3330 O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças mais cultivadas  
3331 globalmente, com sua produção distribuída em 177 países e, estimada em 2.4 bilhões de  
3332 toneladas ao ano (FAOSTAT, 2017). Em nível nacional, é considerada a principal espécie  
3333 olerícola de importância econômica, com ampla utilização em sistemas protegidos dado  
3334 a suscetibilidade ao ataque de pragas, e redução de produtividade devido a fatores  
3335 climáticos adversos em cultivo aberto, principalmente chuvas, que inviabiliza a produção  
3336 em parte do ano (CHARLO *et al.*, 2009). Entre as cultivares de tomateiro utilizadas no

3337 consumo *in natura*, estão o tomate Cereja, Santa Cruz, Italiano e Salada. (ÁVILA *et al.*,  
3338 2022). No Brasil, os principais tomates comercializados são o Salada, seguido do Italiano  
3339 e Cereja (CONAB 2019).

3340 Embora as cultivares do tomateiro sejam auto-compatíveis (*i.e.* conseguem  
3341 produzir frutos a partir da auto-fecundação) (FREE, 1993), a polinização assistida ainda  
3342 assim é um serviço requerido para a melhora da frutificação nesta cultura  
3343 (GAGLIANONE *et al.*, 2015; TONI *et al.*, 2020; COOLEY; VALLEJO-MARIN, 2021).  
3344 Tal benefício está ligado a morfologia floral do tomateiro, que precisa ser vibrada para a  
3345 transferência adequada dos grãos de pólen das anteras poricidas para o estigma da mesma  
3346 flor, característico de plantas da família Solanaceae (GAGLIANONE *et al.*, 2015). Entre  
3347 as abelhas polinizadoras que fazem o comportamento de vibração nas flores, também  
3348 chamado *buzz pollination*, destacam-se as espécies de abelhas sem ferrão do gênero  
3349 *Melipona*.

3350 Os objetivos deste capítulo foram: (1) comparar o efeito da polinização pela abelha  
3351 sem ferrão *Melipona quadrifasciata* com a polinização pelo soprador ou ainda a  
3352 associação de ambos sobre a produtividade e qualidade dos frutos de tomateiro cultivado  
3353 organicamente em estufas. Adicionalmente, analisou-se (2) se o efeito dos tratamentos de  
3354 polinização difere entre duas cultivares (Italiano e Cereja). Por fim, foi feita a valoração  
3355 econômica dos diferentes tratamentos de polinização, procurando entender (3) qual destas  
3356 práticas de polinização assistida (*i.e.* soprador ou pela vibração feita pelas abelhas) seria  
3357 mais rentável para o produtor. Nossas hipóteses foram que: (H1) a qualidade dos frutos e  
3358 a produtividade do tomateiro será maior na polinização promovida pela abelha associada  
3359 à polinização com soprador, seguido da polinização apenas por abelha e, posteriormente,  
3360 pelo soprador; (H2) considerando que pode haver diferentes graus de dependência de  
3361 polinização por abelhas entre cultivares da mesma espécie, conforme indicado por  
3362 Baptistela (2013), testamos a hipótese de que os tratamentos de polinização terão efeitos  
3363 diferentes sobre a qualidade dos frutos e produtividade das duas cultivares de tomateiro;  
3364 e (H3) considerando que haverá maior incremento da qualidade e produtividade com a  
3365 polinização por abelha mais soprador, testamos a hipótese de que este tratamento gerará  
3366 maior lucro, seguido do tratamento com a polinização apenas pelas abelhas, e do  
3367 soprador, independente da cultivar.

3368

3369

## 3370 5.3 MATERIAL E MÉTODOS

3371

3372 **5.3.1 Área de estudo**

3373 Este estudo foi conduzido em dois períodos, de agosto a outubro de 2021 (estação  
 3374 seca), e de janeiro a março de 2022 (estação chuvosa) na Fazenda Malunga (15°58'24"S;  
 3375 47°29'23"W) localizada no Núcleo Rural Lamarão, no Programa de Assentamento  
 3376 Dirigido do Distrito Federal, Brasil (PAD-DF). Com base nos estudos conduzidos nos  
 3377 capítulos 1, 2 e 3, visando uma melhor aclimação da abelha mandaçaia nos ambientes  
 3378 fechados, utilizamos uma estufa com cerca de 3.212 m<sup>2</sup> de área plantada e 4.332 m<sup>2</sup> de  
 3379 área total (58,80 x 74 m), 5,80 metros de altura nas laterais, e 8,70 metros de altura na  
 3380 parte central do teto. A estufa é coberta no teto com filme plástico de polietileno difusor  
 3381 de luz com 150 micra de espessura da marca GINEGAR<sup>®</sup> com transmitância da luz na  
 3382 faixa do ultravioleta (UV: 365 nm) de 10,24%, e telada nas laterais com uma tela branca  
 3383 com cerca de 0,40 mm de abertura de malha (Figura 1A). Esta estufa possui um  
 3384 mecanismo para reduzir a temperatura por meio de um sistema de ventilação na parte  
 3385 central do teto (também chamado de janela sanitária). O número de mudas plantadas por  
 3386 cultivar (*i.e.* Italiano e Cereja), o período de produção avaliado estão registrados na tabela  
 3387 1.

3388

3389 Tabela 1 – Informações sobre o manejo das duas cultivares de tomateiro cultivadas  
 3390 organicamente em estufa<sup>1</sup>.

| Período de experimento   | Número de mudas plantadas | Número de fileiras plantadas | Controle de pragas                                     | Adubação  |
|--|---------------------------|------------------------------|--|---|
| <b>Experimento 1:</b><br>30/08/2021 -<br>25/10/2021<br>(estação seca)    | Italiano: 1.976           | 26                           | Aplicação de produtos por pulverização (Azamax, Dipel, | Aplicação de torta de mamona, composto Bokashi (gesso, capeferti e pó de serragem) e Carvão |
|  | Cereja: 2.052             | 27                           |  |   |
| <b>Experimento 2:</b><br>29/01/2022 -<br>22/03/2022<br>(estação chuvosa) | Italiano: 1.976           | 26                           | Kumulus, Supera e Xentari)                             |   |
|  | Cereja: 2.052             | 27                           |  |   |

3391 Fonte: Dados obtidos com funcionários da Fazenda.

3392 <sup>1</sup> Estufa com 4.332 m<sup>2</sup> de área total (58,80 x 74,00 m), 5,80 m de altura nas laterais e 8,70 m de altura na  
 3393 parte central do teto.

3394



3415 Figura 1 – Estufa utilizada no experimento de polinização assistida de tomateiro pela  
 3416 abelha mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*). (A) Fileiras contendo tomateiro da cultivar  
 3417 Italiano. (B) Lateral da estufa contendo telado branco. (C) Abelha mandaçaia visitando a  
 3418 flor do tomateiro. (D) Canteiros onde foram aplicados os diferentes tratamentos e  
 3419 identificados com placas de cores diferentes. Fonte: Lucas Borges (Foto C).

3420

3421

### 3422 5.3.2 Dados ambientais

3423 A fim de caracterizar as condições ambientais no interior da casa de vegetação,  
 3424 foram registrados os dados de irradiância na faixa de luz ultravioleta (UV), temperatura  
 3425 e umidade durante os dois períodos experimentais. O primeiro experimento ocorreu entre  
 3426 30 de agosto e 25 de outubro de 2021 e o segundo experimento ocorreu entre 29 de janeiro  
 3427 e 22 de março de 2022. Assim, identificamos o primeiro experimento como estação seca  
 3428 e o segundo, como estação chuvosa. Por meio de um radiômetro específico para luz UV  
 3429 (Cole-Parmer Standard Radiometer, EUA), foi registrada a irradiância absoluta  
 3430 (mW/cm<sup>2</sup>) em 365 nm da luz solar resultante no interior da estufa. As medições foram



3431 realizadas diariamente ao longo do período dos experimentos, entre 9:00-10:00 e 12:00-  
3432 13:00 horas. Para as medições, o aparelho foi posicionado no centro e borda das estufas  
3433 a uma altura de um e dois metros do solo. Em cada intervalo de tempo, foram realizadas  
3434 três medições para minimizar variações decorrentes da variação da nebulosidade.  
3435 Utilizando um termo higrômetro (HOBO Pro v2 Temp./RH, Sigma Sensors, Brasil)  
3436 instalado na parte central da estufa a uma altura de dois metros do solo, as medidas de  
3437 temperatura e umidade relativa do ar foram captadas a cada hora pelo sensor e  
3438 armazenadas em um banco de dados do mesmo. Ao final de cada período experimental,  
3439 as informações eram submetidas à leitura no programa HOBOWare e exportadas para uma  
3440 planilha Excel.

3441

### 3442 **5.3.3 Abelha *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia)**

3443 Mandaçaia, como é conhecida popularmente a espécie *M. quadrifasciata*, é uma  
3444 abelha social da subfamília Meliponinae. Os indivíduos medem de 10 à 11 mm de  
3445 comprimento, possuem o corpo preto e apresentam faixas amarelas no abdômen (Figura  
3446 1B). Esta espécie ocorre naturalmente ao longo da Costa Atlântica, se estendendo do Rio  
3447 Grande do Sul até Pernambuco e Paraíba, melhor adaptada a formações florestais  
3448 (MENZEL *et al.* 1989). As mandaçaias constroem seus ninhos em cavidades ocas de  
3449 árvores e galhos. As colônias de *M. quadrifasciata* podem ter de 300 a 1500 indivíduos,  
3450 incluindo operárias, zangões e rainhas (MICHENER, 1974). De forma geral, as  
3451 forrageiras coletam pólen no início da manhã e néctar no fim da manhã e início da tarde,  
3452 conforme relatado por Silva *et al* (2013). Contudo, fatores meteorológicos e qualidade do  
3453 recurso produzido pelas plantas podem influenciar a atividade externa das abelhas. Esta  
3454 espécie é conhecida por ser polinizadora de diversos cultivos como a aboboreira,  
3455 aceroleira, cafeeiral goiabeira, macieira, pimenteira, e tomateiro (WOLOVISKI *et al.*,  
3456 2019). Assim como outras abelhas do gênero *Melipona*, as mandaçaias fazem o  
3457 comportamento de polinização por vibração em flores, conhecido como *buzz pollination*  
3458 (ROSE-DENADAI *et al.*, 2020).

3459

### 3460 **5.3.4 Cultivares de tomateiro avaliadas**

3461 As cultivares escolhidas para este trabalho foram Cereja (híbrido *sweet grape*,  
3462 empresa Sakata) e Italiano (híbrido *graziane*, empresa Sakata). O tomateiro Cereja

3463 engloba híbridos que apresentam frutos pequenos, dispostos em hastes com 12 - 18  
3464 cachos, de coloração vermelha a amarela, formato periforme e elevados teores de sólidos  
3465 solúveis (*i.e.* conteúdo de açúcares totais dos frutos). Já a cultivar Italiano é constituída  
3466 por híbridos de frutos cumpridos (7-10 cm), pontiagudos e oblongos (ÁVILA *et al.*,  
3467 2022). As duas cultivares possuem o tipo de crescimento indeterminado mas com  
3468 características de desenvolvimento diferentes, como o tempo de floração e número de  
3469 flores por inflorescência. Ambas cultivares foram submetidas ao mesmo sistema de  
3470 manejo, incluindo período de plantio, uso de adubos orgânicos, retirada de brotos e  
3471 alinhamento das plantas semanalmente. A escolha das duas cultivares de tomateiro foi  
3472 devido à importância econômica de ambas e às possíveis diferenças entre elas no grau de  
3473 dependência da polinização, conforme indicado em outros estudos (BAPTISTELA,  
3474 2013).

3475

### 3476 **5.3.5 Tratamentos e amostragem**

3477 Para avaliar o efeito da polinização assistida sobre a produção do tomateiro, foram  
3478 testados nos dois experimentos os seguintes tratamentos:

- 3479 - tratamento 1 - autopolinização espontânea (AE): botões florais foram ensacados  
3480 para impedir o acesso de polinizadores e assim permaneceram até o início da fase  
3481 de frutificação;
- 3482 - tratamento 2 - polinização por mandaçaia (PM): botões florais foram marcados  
3483 previamente e deixados desensacados para a visitação pela abelha mandaçaia após  
3484 antese. A verificação da visitação foi feita sempre que possível, por observação  
3485 direta ou pela presença de marcas na flor deixadas pelas abelhas, conforme  
3486 indicado por Morandin *et al* (2001). Assumiu-se que uma única visita à flor foi  
3487 suficiente para considerar a mesma como polinizada, conforme já registrado por  
3488 Morandin *et al* (2001) para a visitação de *Bombus impatiens*, e também por  
3489 Baptistella (2013) na visitação de *M. quadrifasciata* às flores do tomateiro;
- 3490 - tratamento 3 - polinização por soprador (PS): botões florais foram previamente  
3491 marcados e ensacados com sacos de voal visando excluir a visitação por abelhas  
3492 após a antese. As flores permaneceram ensacadas durante todo o período de  
3493 antese. O uso do soprador foi feito conforme prática de manejo da fazenda,  
3494 passando-o uma vez por dia durante o período de antese completa da flor (entre  
3495 08h-10h), por pelo menos 3 dias seguidos. Uma vez que os sacos de voal

3496 utilizados nos tratamentos AE e PS foram removidos das inflorescências durante  
3497 o início da fase de frutificação, assumiu-se que o efeito do ensacamento sobre o  
3498 desenvolvimento dos frutos foi mínimo ou nulo;

3499 - tratamento 4 - polinização por mandaçaia mais soprador (PMPS): botões florais  
3500 foram marcados e deixados desensacados após antese para serem polinizados pela  
3501 abelha mandaçaia e pelo soprador seguindo os mesmos critérios dos tratamentos  
3502 2 e 3. Contudo, não foi feito o ensacamento da inflorescência visando manter a  
3503 flor disponível para a visitação pela abelha durante todo o período da antese.

3504 Para cada um dos tratamentos, foram marcados e identificados entre 80 e 120  
3505 botões florais a depender do experimento e da cultivar (mais detalhes na Tabela 3 e 4).  
3506 Tais botões eram distribuídos, aleatoriamente, em diferentes plantas, marcando sempre  
3507 um botão por planta. Os tratamentos foram aplicados por cerca de quatro dias sequenciais  
3508 até completar o número de repetições determinadas por tratamento. A escolha de um  
3509 único botão por planta se deu pela possibilidade da aplicação do tratamento com o  
3510 soprador interferir nos tratamentos sem polinização ou com a polinização somente por  
3511 abelha. Pelo mesmo motivo citado, os tratamentos também foram distribuídos em  
3512 canteiros separados. A marcação dos botões foi feita no pecíolo dos mesmos usando  
3513 "liquid paper, na cor branca" a base de água, sendo reforçada, sempre que necessário, até  
3514 o período de colheita do fruto. Os botões marcados estavam sempre num estágio de  
3515 desenvolvimento próximo à antese. Uma vez que plantas de tomateiro de crescimento  
3516 indeterminado podem reduzir o investimento reprodutivo ao longo do ciclo (VICENTE  
3517 *et al.*, 2015; MORAES, 2014), procurou-se selecionar apenas as primeiras flores de  
3518 cachos intermediários.

3519

3520

### 3521 **5.3.6 Dados de produção**

3522 No período de frutificação, foi feita a coleta dos frutos resultantes de cada  
3523 tratamento. O número de frutos formados e o número de frutos abortados, isto é, frutos  
3524 que tiveram desenvolvimento inadequado permanecendo entre 2-10 milímetros, foram  
3525 contabilizados. Também foram registrados os frutos que tiveram ataque de pragas. Para  
3526 a cultivar Italiano, os frutos eram coletados a partir do início do amadurecimento  
3527 (coloração levemente laranja). A coleta de frutos no início do estágio de  
3528 amadurecimento ocorreu devido ao maior ataque de pragas neste cultivar, bem como para

3529 reduzir as chances de perda de frutos marcados pela colheita prévia de funcionários da  
3530 fazenda neste estágio. Já para a cultivar Cereja, optou-se por coletar os frutos em estágio  
3531 mais avançado de amadurecimento (coloração laranjada para vermelha), já que nesta  
3532 cultivar mediu-se o teor de açúcares dos frutos mais maduros. Após a coleta, os frutos  
3533 foram armazenados separadamente em sacos plásticos vedáveis e foram mantidos em  
3534 temperatura ambiente no laboratório de Ecologia e Biossegurança da Embrapa Cenargen  
3535 até o amadurecimento completo para as análises quantitativa e qualitativa. Os parâmetros  
3536 de qualidade da produção foram semelhantes aos utilizados por Meyrelles (2013), sendo  
3537 eles: peso, tamanho (diâmetro e comprimento), número e massa seca de sementes. Para a  
3538 cultivar Cereja, *avaliou-se* ainda o teor de sólidos solúveis relacionado à doçura do  
3539 tomate. O peso dos frutos foi obtido em balança de precisão, marca Bioprecisa. O  
3540 diâmetro e comprimento dos frutos foi medido com o uso de um paquímetro, marca  
3541 Mitutoyo. A contagem e pesagem das sementes se deu por meio da lavagem das mesmas,  
3542 e posterior secagem em estufa, marca Napco model 630, a 105°C, por 24 horas (BRASIL,  
3543 2009). O teor de sólidos solúveis totais foi determinado utilizando-se um refratômetro  
3544 digital da marca Atago e os resultados expressos em °Brix.

3545 A partir dos dados de peso em gramas dos frutos, foi possível calcular a  
3546 produtividade em quilograma por metro linear. Para isto, calculou-se primeiramente a  
3547 produtividade por haste do tomateiro, multiplicando o peso do fruto pelo número médio  
3548 de frutos por haste. Cada planta de tomate possuía uma ou duas hastes (ver Figura 1C).  
3549 Considerou-se como haste uma ramificação do caule ou galho, contendo folhas e  
3550 inflorescências. Este valor foi obtido a partir do cálculo do número médio de cachos por  
3551 haste, bem como do número médio de frutos por cacho obtido para cada uma das plantas  
3552 amostradas. Por meio do valor de produtividade por haste, calculou-se a produtividade  
3553 em quilogramas por metro linear (kg / m), dividindo o valor de produtividade por haste  
3554 por 1000 e multiplicando o mesmo por seis, que corresponde ao número de hastes por  
3555 metro linear.

3556

### 3557 **5.3.7 Análises econômicas**

3558 A valoração econômica dos tratamentos de polinização foi feita a partir do  
3559 levantamento de dados de custo de produção e comercialização para ambas cultivares de  
3560 tomateiro avaliadas neste estudo. Para isto, foi elaborado um questionário adaptado de  
3561 Martinez *et al* (2019) que foi respondido pelos responsáveis por diferentes setores de

3562 produção da Fazenda Malunga. Foram obtidas informações sobre número de estufas na  
3563 propriedade, áreas das estufas, investimento na construção das estufas, produtividade  
3564 média para cada cultivar, o tempo de duração do ciclo produtivo bem como, gastos com  
3565 mão-de-obra, insumos e materiais, despesas administrativas e comerciais, e preço de  
3566 venda dos produtos (Anexo 2).

3567 Com base nas respostas obtidas, foi construída uma planilha dos custos referentes  
3568 a uma estufa de área total de 4.332 m<sup>2</sup>. Todos os gastos foram estimados em reais (R\$,  
3569 ano de 2021 e 2022) por estufa ao longo de um ciclo de produção de tomateiro (ca. de 4  
3570 meses). Por meio dos dados de custos obtidos para o manejo de abelhas e uso do soprador,  
3571 foi possível estabelecer quatro cenários de custos associados aos tratamentos aplicados  
3572 neste experimento, sendo eles: Cenário 1 = custo referente ao cultivo e produção do  
3573 tomateiro sem o uso da polinização assistida com abelhas manejadas e com soprador;  
3574 cenário 2 = custo com o cultivo do tomateiro mais o custo com a aquisição e manejo de  
3575 caixas de abelhas para a polinização; cenário 3 = custo com o cultivo do tomateiro mais  
3576 o custo com a aquisição e uso do soprador para polinização; e por fim, o cenário 4 = custo  
3577 com o cultivo do tomateiro e custo com o manejo de abelha somado ao custo com o uso  
3578 do soprador para a polinização assistida.

3579 Com base na produtividade medida em quilograma por metro linear, a  
3580 produtividade total da estufa foi estimada considerando 27 e 26 linhas para as cultivares  
3581 Cereja e Italiano, respectivamente, com 37 metros de comprimento, totalizando uma área  
3582 plantada de aproximadamente 3.212 m<sup>2</sup>. A estimativa foi realizada considerando os  
3583 quatro cenários associados a cada experimento de polinização. Em seguida, o valor da  
3584 produção foi estimado multiplicando a produção por área plantada pelo preço médio do  
3585 tomate. Por fim, o lucro foi calculado subtraindo os custos do valor da produção para cada  
3586 cenário e para cada cultivar (mais detalhes na tabela 2).

3587

3588

3589

3590

3591

3592

3593

3594

3595

3596 Tabela 2 - Conceito dos termos econômicos utilizados nas análises econômicas do estudo.

| <b>Termo econômico</b>                                     | <b>Conceito</b>   |
|--|---|
| Receita  | Valor obtido em reais a partir da multiplicação da produção pelo preço médio estabelecido para cada cultivar.   |
| Custo de mão-de-obra do manejo produtivo (fixa e variável) | <p><u>Fixa</u>: refere-se ao somatório de todos os custos envolvendo o transplante de mudas, tutoramento/desbrota, pulverização, limpeza, seleção e embalagem, bem como outras atividades realizadas diretamente pelos funcionários. Valor informado pelos produtores.</p> <p><u>Variável</u>: refere-se ao preço pago pelo serviço de colheita dos frutos, que considera o valor de R\$ 0,45 por quilograma colhido por cada funcionário. Valor informado pelos produtores.</p>  |
| Custo da mão-de-obra do manejo de abelhas                  | Refere-se ao preço pago a um funcionário para manutenção das colmeias de abelhas manejadas. Para chegar ao valor total por ciclo, considerou-se 16 dias de trabalho (uma hora de trabalho por dia), realizado por um funcionário. Assumiu-se o valor do salário mínimo mensal de 2021 (R\$ 1.100,00).   |
| Custo da mão-de-obra do manejo do soprador                 | Refere-se ao preço pago a um funcionário para aplicação do soprador uma vez por dia (uma hora de trabalho) em um ciclo de produção (ca. de 8 semanas de floração). Assumiu-se o valor do salário mínimo mensal de 2021 (R\$ 1.100,00).  |
| Custo de insumos/materiais                                 | Refere-se ao somatório do valor de todos os insumos e materiais utilizados ao longo de um ciclo de produção para cada cultivar, sendo eles: defensivos, adubos (sulfato de potássio, composto contendo gesso, capeferti e pó de serragem, carvão, torta de mamona), mudas compradas, e energia elétrica gasta. Valores informados pelos produtores, exceto para os valores dos defensivos utilizados, que foram obtidos por Silva (2016).   |
| Investimento   | <p>- <u>Estufa</u>: Valor total de investimento para construção da estufa, aquisição de pulverizadores, de caixas para colheita de frutos e de materiais de cobertura. A incorporação deste valor total nos custos de produção foi baseada na depreciação de uma estufa, valor obtido pela divisão entre o valor total do investimento e o tempo de vida útil de uma estufa, considerado aqui como 15 anos.</p> <p>- <u>Caixa de abelhas</u>: Valor do investimento para a aquisição de dez caixas de abelhas com uma vida útil de 5 anos. Valor considerado foi referente ao preço médio de caixas da espécie <i>Melipona quadrifasciata</i> obtidas por meliponicultores da região do Distrito Federal (R\$ 500,00) dividido pelo tempo de vida útil.</p> |

Soprador: Valor do investimento para aquisição de três sopradores da marca Makita-BHX2500VG com uma vida útil de 5 anos.

|  |  |
|--|--|
| Despesas<br>(administrativas e comerciais) | Trata-se do somatório de todas as despesas administrativas (ex. materiais de escritório) e comerciais (internet, frete e distribuição, marketing, consultorias, manutenção e reparos) dividido pelo número de estufas da fazenda. Valor informado pelo produtor. |
| Custo Total                                | Refere-se ao somatório de todos os gastos com a mão-de-obra, insumos, e investimentos (com e sem agentes polinizadores).   |
| Lucro                                      | Trata-se do valor resultante da diferença entre o valor da receita total e do custo total das despesas.  |

---

3597

3598

### 3599 **5.3.8 Análise dos dados**

3600 Para avaliar a influência dos tratamentos com e sem polinização (AE, PM, PS e  
 3601 PMPS) sobre os diferentes parâmetros de qualidade dos frutos (peso, tamanho, número e  
 3602 massa seca de sementes e sólidos solúveis) e sobre os dados de produtividade  
 3603 (produtividade em quilograma por metro linear) em cada um dos períodos experimentais  
 3604 e para cada cultivar, foram utilizados modelos lineares (LM) com o pacote “lme4”  
 3605 (BATES *et al.*, 2015). Para verificar em cada cultivar como cada tratamento afetou as  
 3606 medidas econômicas (valor médio de produtividade e lucro por estufa (com uma área total  
 3607 de 4.332 m<sup>2</sup>), foram aplicados os mesmos modelos citados acima. As verificações dos  
 3608 resíduos dos modelos foram realizadas utilizando o pacote “DHARMA” (HARTIG,  
 3609 2020). Para comparação múltipla entre níveis de uma variável, foi utilizado o pacote  
 3610 “multcomp” (HOLTHORN *et al.*, 2008). Todas as análises estatísticas foram feitas no  
 3611 programa R versão 4.2.0.

3612

## 3613 **5.4 RESULTADOS**

3614

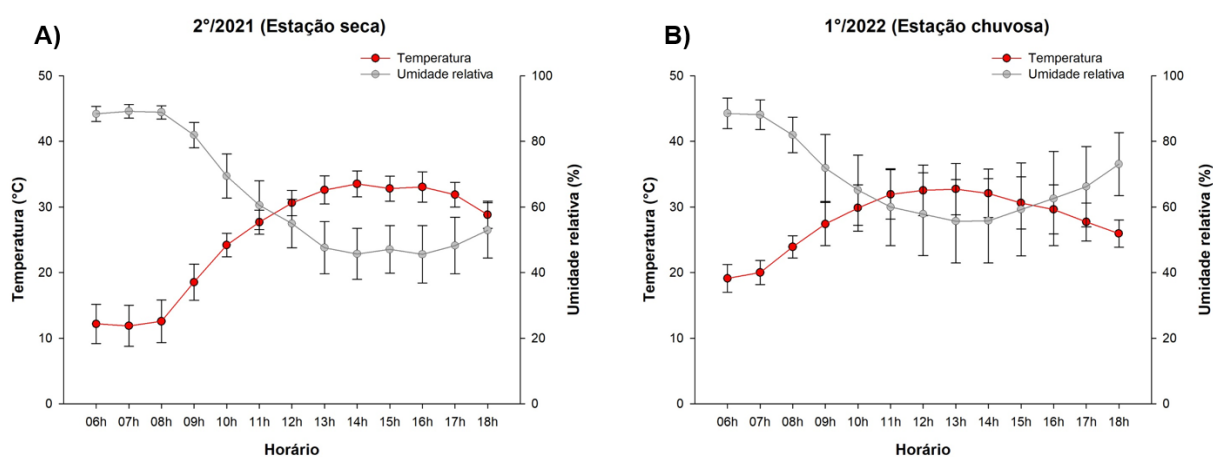
### 3615 **5.4.1 Avaliação das condições ambientais da estufa e atividade das forrageiras de** 3616 ***M. quadrifasciata***

3617 A temperatura média (e erro padrão) no período da estação seca foi de 25,41°C ±  
 3618 1,27, variando entre 11,80°C ± 3,12 (mínima) e 33,50°C ± 1,97 (máxima) ao longo do

3619 dia. Já no período da estação chuvosa, a temperatura média esteve em torno de  $28,00^{\circ}\text{C}$   
 3620  $\pm 2,38$ , com uma amplitude térmica diária menor que na estação seca, oscilando, em  
 3621 média, entre  $19,12^{\circ}\text{C} \pm 2,12$  e  $32,50^{\circ}\text{C} \pm 3,87$ . A umidade relativa apresentou valores  
 3622 médios de  $63\% \pm 4,98$  e  $68\% \pm 3,25$  na estação seca e chuvosa, respectivamente. Os  
 3623 valores mais extremos ocorreram na estação seca, variando entre  $45\% \pm 8,72$  e  $89\% \pm$   
 3624  $2,09$ , comparado a estação chuvosa, cujos valores estiveram entre  $55\% \pm 12,80$  e  $88\% \pm$   
 3625  $4,66$  (Figura 2). A irradiância na faixa de luz ultravioleta (UV - 365 nm) no interior da  
 3626 estufa apresentou valores médios de  $431 \pm 44,32$  e  $416 \pm 46,18$  mW/cm<sup>3</sup> na estação seca  
 3627 e chuvosa, respectivamente. Na estação seca, a irradiância (mW/cm<sup>2</sup>) no período da  
 3628 manhã, entre 09:00 - 10:00 horas, foi de  $161,37 \pm 8,22$ , enquanto que no período da tarde,  
 3629 entre 12:00 e 13:00 horas, foi de  $647,95 \pm 30,60$ . Já na estação chuvosa, obteve-se valores  
 3630  $223,91 \pm 18,99$  das 09:00-10:00 horas e  $416,90 \pm 71,60$ , entre 12:00-13:00 horas.

3631

3632



3633

3634 Figura 2 - Valores médios e erro padrão (EP) dos dados de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e umidade  
 3635 relativa (%) registrados entre 06:00 horas e 18:00 horas durante experimentos em uma  
 3636 estufa com as seguintes características: área total de  $4.332\text{ m}^2$ , com cerca de 7 metros de  
 3637 altura de pé direito e coberta no teto com filme plástico difusor de luz 150 micras da  
 3638 marca GINEGAR e telado de cerca de 5 metros de altura (malha plástica branca de 50  
 3639 mesh) nas laterais. (A) valores obtidos entre 30 de agosto a 25 de outubro de 2021 (estação  
 3640 seca) e (B) valores obtidos entre 29 de janeiro e 22 de março de 2022 (estação chuvosa).

3641

3642 As forrageiras de *M. quadrifasciata* foram observadas visitando as flores das  
 3643 cultivares do tomateiro após o quarto dia de confinamento. Foram identificadas marcas  
 3644 nas flores, indicando o comportamento de vibração nas flores feito pelas abelhas. A



3645 presença de abelhas na parede e teto foi observada apenas nos primeiros dois dias após a  
3646 instalação dos ninhos no interior da estufa. O horário de maior atividade das forrageiras  
3647 ao longo dos dias de confinamento se concentrou nos horários em que a temperatura  
3648 estava mais amena, pela manhã entre 08:00 e 11:00 horas, e final da tarde, entre as 16:00  
3649 e 18:00 horas.

3650

3651

#### 3652 **5.4.2 Efeitos da polinização sobre a frutificação e os parâmetros de qualidade do** 3653 **tomateiro**

3654 A frutificação variou entre tratamentos para cada uma das cultivares. De forma  
3655 geral, em ambas cultivares a frutificação foi maior nos tratamentos de polinização com a  
3656 abelha mandaçaia (PM) e da mandaçaia com soprador (PMPS). Ambos tratamentos  
3657 também registraram os menores valores de frutos abortados, enquanto que o tratamento  
3658 de autopolinização espontânea (AE) obteve o maior número de abortos nos dois  
3659 experimentos, seguido do tratamento de polinização com soprador (PS). O ataque de  
3660 pragas se concentrou no período da estação chuvosa, sobretudo para a cultivar Italiano.  
3661 Aparentemente, esta cultivar é mais susceptível ao ataque de pragas (Tabela 3 e 4).

3662

3663

3664

3665

3666

3667

3668

3669

3670

3671

3672

3673

3674

3675

3676

3677

3678

3679

3680 Tabela 3 - Dados de frutificação (%), abortos (%) e ataque de pragas nos frutos oriundos  
 3681 dos diferentes tratamentos de polinização aplicados em flores de tomateiro da **cultivar**  
 3682 **Italiano** cultivada organicamente em uma estufa com 4.332 m<sup>2</sup>, com cerca de 8,70 metros  
 3683 de altura na parte central do teto, coberta no teto com filme plástico difusor de luz 150  
 3684 micras da marca GINEGAR e telado de cerca de 5 metros de altura (malha plástica branca  
 3685 de 50 mesh) nas laterais. Os tratamentos avaliados foram: autopolinização espontânea  
 3686 (AE), polinização por abelha (PM), polinização por soprador (PS) e polinização por  
 3687 abelha associado ao soprador (PMPS).

| CULTIVAR ITALIANO  |             |  |  |  |   |
|--|-------------|--|--|--|---|
| Período dos experimentos   | Tratamentos | N amostral (número de botões florais submetidos ao tratamento) | Frutificação (número e % de frutos formados) | Abortos (número e % de frutos não desenvolvidos) | Ataque de pragas (número de frutos com sintomas de ataques de pragas) * |
| Experimento 1:<br>30/08/2021 –<br>25/10/2021<br>(Estação Seca)       | AE          | 105  | 34 (32%)                                     | 71 (68%)   | 1   |
|  | PM          | 119  | 102 (86%)                                    | 17 (14%)   | 4   |
|  | PS          | 111  | 84 (76%)                                     | 27 (24%)   | 2   |
|  | PMPS        | 104  | 98 (94%)                                     | 6 (6%)   | 2   |
| Experimento 2:<br>29/01/2022 -<br>22/03/2022<br>(Estação<br>chuvosa) | AE          | 114  | 39 (34%)                                     | 75 (66%)   | 12  |
|  | PM          | 117  | 99 (85%)                                     | 18 (15%)   | 28  |
|  | PS          | 113  | 58 (51%)                                     | 55 (49%)   | 16  |
|  | PMPS        | 112  | 98 (88%)                                     | 14 (12%)   | 31  |

\* A principais pragas combatidas foram o fungo *Cladosporium sp.* e a traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*, Lepidoptera: Família Gelechiidae).

3688

3689

3690

3691

3692

3693

3694 Tabela 4 - Dados de frutificação (%), abortos (%) e ataque de pragas em cada um dos  
 3695 tratamentos de polinização aplicados em flores de tomateiro na **cultivar Cereja** cultivada  
 3696 organicamente em uma estufa com 4.332 m<sup>2</sup>, com cerca de 7 metros de altura de pé  
 3697 direito, coberta no teto com filme plástico difusor de luz 150 micras da marca GINEGAR  
 3698 e telado de cerca de 5 metros de altura (malha plástica branca de 50 mesh) nas laterais.  
 3699 Os tratamentos avaliados foram: autopolinização espontânea (AE), polinização por  
 3700 abelha (PM), polinização por soprador (PS) e polinização por abelha associado ao  
 3701 soprador (PMPS).

| CULTIVAR CEREJA   |             |  |  |  |  |
|---|-------------|--|--|--|--|
| Período dos experimentos  | Tratamentos | N amostral (número de botões florais submetidos ao tratamento) | Frutificação (número e % de frutos formados) | Abortos (número e % de frutos não desenvolvidos) | Ataque de pragas (número de frutos com sintomas de ataques de pragas)* |
| Experimento 1:<br>30/08/2021 –<br>25/10/2021<br>(Estação Seca)    | AE          | 79   | 52 (66%)                                     | 27 (34%)   | 0  |
|   | PM          | 115  | 103 (90%)                                    | 12 (10%)   | 0  |
|   | PS          | 115  | 86 (75%)                                     | 29 (15%)   | 4  |
|   | PMPS        | 110  | 108 (98%)                                    | 2 (2%)   | 0  |
| Experimento 2:<br>29/01/2022 -<br>22/03/2022<br>(Estação chuvosa) | AE          | 117  | 78 (67%)                                     | 39 (32%)   | 1  |
|   | PM          | 109  | 100 (92%)                                    | 9 (8%)   | 3  |
|   | PS          | 104  | 79 (76%)                                     | 25 (24%)   | 9  |
|   | PMPS        | 116  | 107 (92%)                                    | 9 (8%)   | 4  |

\* A principais pragas combatidas foram o fungo *Cladosporium sp.* e a traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*, Lepidoptera: Família Gelechiidae).

3702

3703 Na estação seca, para a cultivar Italiano, observou-se que, em média, os frutos do  
 3704 tratamento com polinização pela abelha associado ao soprador (PMPS) foram 18% mais  
 3705 pesados que os frutos do tratamento somente com o soprador (PS) e apresentaram  
 3706 aproximadamente o dobro do peso dos frutos do tratamento sem polinização (AE) ( $F_{(3,314)}$   
 3707 = 15,26,  $p < 0,001$ ). Contudo, não diferiram do tratamento com polinização realizada  
 3708 somente pela abelha (PM) ( $p = 0,18$ ). Da mesma, o número médio de sementes foi  
 3709 significativamente maior no tratamento PMPS, apresentando frutos com cerca de duas  
 3710 vezes mais sementes que àqueles do tratamento AE, e 21% a mais que no tratamento PS

3711 ( $F_{(3,312)} = 21,85$ ,  $p < 0,001$ ). O comprimento dos frutos e massa seca das sementes, porém,  
3712 diferiram apenas entre o tratamento de autopolinização (AE) para com os demais  
3713 tratamentos ( $p < 0,05$ ). No período da estação chuvosa, observou-se que a maior parte  
3714 dos parâmetros de qualidade dos frutos tiveram valores médios maiores apenas para o  
3715 tratamento PM em relação aos demais tratamentos. A massa seca de sementes, por  
3716 exemplo, foi 62,5% maior no tratamento PM quando comparado ao tratamento PS  
3717 ( $F_{(3,289)} = 25,4$ ,  $p < 0,001$ ). A única exceção ocorreu para o comprimento dos frutos, que  
3718 não diferiu entre os tratamentos de polinização, sendo maior apenas em comparação ao  
3719 tratamento AE ( $F_{(3,289)} = 17,3$ ,  $p < 0,001$ ) (mais detalhes na Tabela 5).

3720       Para a cultivar Cereja, durante a estação seca, houve maior diâmetro e massa seca  
3721 de sementes no tratamento PMPS em relação aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ). Da  
3722 mesma forma, o peso e comprimento médio dos frutos, foi maior neste tratamento  
3723 (PMPS), não diferindo apenas do tratamento PS ( $p < 0,05$ ). Todos os tratamentos  
3724 apresentaram maior teor de sólidos solúveis em comparação ao tratamento PS neste  
3725 período ( $F_{(3,323)} = 12,06$ ,  $p < 0,001$ ). Já na estação chuvosa, houve maior diâmetro,  
3726 número e massa seca de sementes nos tratamentos PM e PMPS, enquanto que o  
3727 comprimento médio foi maior apenas no tratamento com soprador ( $F_{(3,357)} = 5,30$ ,  $p <$   
3728  $0,001$ ). O peso foi maior nos tratamentos de polinização (PM, PMPS e PS) em  
3729 comparação ao tratamento AE. Por fim, não houveram diferenças significativas entre os  
3730 tratamentos no teor de sólidos solúveis neste período ( $p = 0,20$ ). O número de semente e  
3731 diâmetro dos frutos foram as únicas variáveis cujos valores foram sempre superiores nos  
3732 tratamentos com polinização por abelha e com polinização por abelhas associada ao  
3733 soprador, independente da cultivar e do período de experimento ( $p < 0,05$ ) (tabela 5).

3734

3735

3736

3737

3738

3739

3740

3741

3742

3743

3744

3745 Tabela 5 – Parâmetros de qualidade dos frutos (peso, diâmetro, comprimento, número de  
 3746 sementes, massa seca de sementes e sólidos solúveis) avaliados para as cultivares do  
 3747 tomateiro Italiano e Cereja em dois períodos de experimento em casa de vegetação no  
 3748 Distrito Federal: entre 30 de agosto e 25 de outubro de 2021 (estação seca) e, 29 de janeiro  
 3749 e 22 de março de 2022 (estação chuvosa). Como tratamentos, tivemos: autopolinização  
 3750 espontânea (AE), polinização por abelha *Melipona quadrifasciata* (PM), por soprador  
 3751 (PS), ou por ambos agentes polinizadores (PMPS). Dados de sólidos solúveis só foram  
 3752 obtidos para a cultivar Cereja. Dados apresentados são valores médios e erro padrão (EP).  
 3753 Valores em negrito representam aqueles com maior significância ( $\alpha = 0,05$ ).  
 3754

| Cultivar | Período de experimentos | Tratamentos | Peso (g)<br>(média ± EP) | Diâmetro (cm)<br>(média ± EP) | Comprimento<br>(cm)<br>(média ± EP) | Nº sementes<br>(média ± EP) | Massa seca<br>de sementes<br>(g)<br>(média ± EP) | Sólidos<br>solúveis (Brix <sup>c</sup> )<br>(média ± EP) |
|----------|-------------------------|-------------|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|--|--|
| Italiano | Estação seca            | AE          | 45,57 ± 3,35 c           | 3,71 ± 0,08 c                 | 5,82 ± 0,19 b                       | 29 ± 4,68 c                 | 0,07 ± 0,01 b                                    | -  |
|          |                         | PM          | <b>78,31 ± 2,83 a,b</b>  | <b>4,44 ± 0,06 a,b</b>        | <b>7,10 ± 0,10 a</b>                | <b>78 ± 3,56 a,b</b>        | <b>0,23 ± 0,01 a</b>                             | -  |
|          |                         | PS          | 73,59 ± 3,74 b           | 4,18 ± 0,09 b                 | <b>6,98 ± 0,01 a</b>                | 71 ± 4,41 b                 | <b>0,23 ± 0,01 a</b>                             | -  |
|          |                         | PMPS        | <b>87,10 ± 3,44 a</b>    | <b>4,55 ± 0,08 a</b>          | <b>7,45 ± 0,00 a</b>                | <b>86 ± 3,42 a</b>          | <b>0,23 ± 0,00 a</b>                             | -  |
|          | Estação chuvosa         | AE          | 44,07 ± 3,56 b           | 3,90 ± 0,10 c                 | 5,33 ± 0,19 b                       | 67 ± 5,29 c                 | 0,17 ± 0,01 c                                    | -  |
|          |                         | PM          | <b>58,22 ± 1,98 a</b>    | <b>4,29 ± 0,05 a</b>          | <b>6,61 ± 0,09 a</b>                | <b>100 ± 2,66 a</b>         | <b>0,26 ± 0,00 a</b>                             | -  |
|          |                         | PS          | 46,96 ± 2,21 b           | 4,03 ± 0,06 b                 | <b>6,27 ± 0,10 a</b>                | 63 ± 2,61 c                 | 0,16 ± 0,00 c                                    | -  |
|          |                         | PMPS        | 49,92 ± 1,91 b           | <b>4,09 ± 0,05 a,b</b>        | <b>6,34 ± 0,09 a</b>                | 90 ± 3,16 b                 | 0,22 ± 0,00 b                                    | -  |
| Cereja   | Estação seca            | AE          | 4,63 ± 0,24 c            | 1,78 ± 0,03 c                 | 2,71 ± 0,05 b                       | 35,26 ± 2,84 b              | 0,05 ± 0,00 c                                    | <b>6,08 ± 0,10 a</b>                                     |
|          |                         | PM          | 5,19 ± 0,13 b            | 1,94 ± 0,02 b                 | 2,73 ± 0,03 b                       | <b>53,23 ± 2,05 a</b>       | 0,07 ± 0,00 b                                    | <b>6,04 ± 0,07 a</b>                                     |
|          |                         | PS          | <b>6,25 ± 0,22 a</b>     | 1,96 ± 0,02 b                 | <b>3,05 ± 0,03 a</b>                | 37,15 ± 2,15 b              | 0,05 ± 0,00 c                                    | 5,47 ± 0,08 b  |
|          |                         | PMPS        | <b>6,28 ± 0,14 a</b>     | <b>2,06 ± 0,01 a</b>          | <b>2,97 ± 0,02 a</b>                | <b>52,91 ± 1,77 a</b>       | <b>0,08 ± 0,00 a</b>                             | <b>5,98 ± 0,06 a</b>                                     |
|          | Estação chuvosa         | AE          | 4,04 ± 0,20 b            | 1,79 ± 0,04 c                 | 2,34 ± 0,05 c                       | 43,80 ± 2,04 b              | 0,06 ± 0,00 c                                    | 5,35 ± 0,07 a  |
|          |                         | PM          | <b>4,74 ± 0,13 a</b>     | <b>1,96 ± 0,02 a</b>          | 2,47 ± 0,03 b                       | <b>60,41 ± 1,61 a</b>       | <b>0,08 ± 0,00 a</b>                             | 6,27 ± 0,53 a  |
|          |                         | PS          | <b>4,82 ± 0,20 a</b>     | 1,89 ± 0,03 b                 | <b>2,58 ± 0,04 a</b>                | 47,56 ± 2,19 b              | 0,07 ± 0,00 b                                    | 5,85 ± 0,08 a  |
|          |                         | PMPS        | <b>4,83 ± 0,14 a</b>     | <b>1,98 ± 0,02 a</b>          | 2,49 ± 0,03 b                       | <b>62,53 ± 1,48 a</b>       | <b>0,08 ± 0,00 a</b>                             | 5,82 ± 0,05 a  |

3755

3756

### 3757 **5.4.3 Efeitos da polinização mediada pela abelha mandaia e pelo soprador** 3758 **sobre a produtividade e avaliação econômica do tomateiro cultivado** 3759 **organicamente em casa de vegetação**

3760 No período da estação seca, para a cultivar Italiano, todos os tratamentos de  
 3761 polinização apresentaram maior produtividade em comparação ao tratamento sem  
 3762 polinização (Tabela 6). A estimativa de produtividade (em quilograma por metro linear)  
 3763 foi significativamente maior no tratamento de polinização com abelha mais soprador  
 3764 (PMPS: 24,04 kg ± 0,95) em comparação ao tratamento PS (20,31 kg ± 1,03), mas não

3765 diferiu do tratamento só com abelha (PM: 21,61 kg  $\pm$  0,78) ( $F_{(3,314)} = 15,2$ ,  $p < 0,001$ ).  
 3766 Considerando a área total plantada na estufa, a estimativa de valor médio foi superior a  
 3767 23.000 quilogramas no tratamento usando o soprador e abelhas (PMPS), 16% maior que  
 3768 o valor encontrado no tratamento PS (20.068 kg  $\pm$  1.020) ( $F_{(3,289)} = 7,2$ ,  $p < 0,001$ ) (Figura  
 3769 3A e B). As medidas econômicas mostraram resultados semelhantes na diferença entre  
 3770 tratamentos. Em média, o tratamento PMPS gerou um valor de produtividade de R\$  
 3771 211.398,40  $\pm$  8.362,82, valor 18 e 91% maior que nos tratamentos PS e AE,  
 3772 respectivamente, não diferindo significativamente apenas do PM, com valor médio de R\$  
 3773 190.076,30  $\pm$  6.871,80 ( $F_{(3,314)} = 15,2$ ,  $p < 0,001$ ). Da mesma forma, a estimativa do lucro  
 3774 médio por estufa, que considera os gastos obtidos em cada cenário avaliado, foi maior  
 3775 nos tratamentos PMPS, chegando a R\$ 172.618,04  $\pm$  7.939,98, seguido do tratamento  
 3776 PM, com lucro de R\$ 151.515,00  $\pm$  6.524,35 ( $F_{(3,314)} = 15,17$ ,  $p < 0,001$ ), conforme  
 3777 ilustrado na figura 3C e D.

3778 No período da estação chuvosa, a cultivar Italiano obteve maior produtividade em  
 3779 quilograma por metro linear (13,97  $\pm$  0,47) e por área plantada da estufa (13.806,37  $\pm$   
 3780 471,13) apenas no tratamento de polinização com mandaçaia (PM) em relação aos demais  
 3781 tratamentos ( $p < 0,01$ ) (Figura 3E e F). O tratamento PMPS alcançou produtividade média  
 3782 de cerca de 12 kg/m e 11.837 kg/estufa, mas não diferiu dos tratamentos PS e AE ( $p >$   
 3783 0,05). Da mesma forma, observou-se que o valor médio de produtividade por estufa foi  
 3784 de R\$ 122.876,69  $\pm$  4.193,05 no tratamento PM, cerca de 16% maior que no tratamento  
 3785 PMPS, seguido dos tratamentos PS e AE (23 e 32%, respectivamente) ( $F_{(3,289)} = 7,22$ ,  $p$   
 3786  $< 0,001$ ). O lucro médio por estufa também foi maior no tratamento PM, chegando a R\$  
 3787 99.063,00  $\pm$  4.193,05 (Figura 3G e H). De forma geral, a produtividade e métricas  
 3788 econômicas (valor de produção e lucro) foram sempre maiores em todos os tratamentos  
 3789 na estação seca comparado a estação chuvosa para esta cultivar, com exceção do  
 3790 tratamento de autopolinização espontânea (AE) (Figura 3, Tabela 6).

3791

3792 Tabela 6 - Resumo dos valores médios de produtividade, receita, custo geral com insumos  
 3793 e materiais, investimentos com aquisição e manutenção de caixas de abelhas e soprador,  
 3794 despesas administrativas (ADM) e comerciais (COM), custo e lucro total obtido a partir  
 3795 das informações coletadas pelo questionário (Anexo 2) para as cultivares Italiano e Cereja  
 3796 nos dois períodos de experimentos (estação seca e chuvosa).

---



---

ESTAÇÃO SECA

Italiano

Cereja

---

| Variáveis econômicas  | Cenário 1<br>(AE) | Cenário 2<br>(PM) | Cenário 3<br>(PS) | Cenário 4<br>(PMPS) | Cenário<br>1 (AE) | Cenário 2<br>(PM) | Cenário<br>3 (PS) | Cenário 4<br>(PMPS) |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| <b>Produtividade média<br/>(kg / área plantada<br/>em estufa)</b> | 12.427,43         | 21.356,89         | 20.068,64         | 23.752,63           | 8.647,59          | 9.695,81          | 11.676,11         | 11.742,26           |
| <b>Receita (R\$ -<br/>produtividade*preço<br/>médio)</b>          | 111.846,87        | 192.212,01        | 180.617,76        | 213.773,67          | 108.094,87<br>5   | 121.197,62        | 145.951,37        | 146.778,25          |
| <b>Custo geral* sem o<br/>manejo de<br/>polinização (R\$)</b>     | 26.232,00         | 26.232,00         | 26.232,00         | 26.232,00           | 28.759,00         | 28.759,00         | 28.759,00         | 28.759,00           |
| <b>Custo com o manejo<br/>de abelhas em (R\$)</b>                 | 0                 | 1000              | 0                 | 1000                | 0                 | 1000              | 0                 | 1000                |
| <b>Custo com o manejo<br/>do soprador (R\$)</b>                   | 0                 | 0                 | 140,91            | 140,91              | 0                 | 0                 | 140,91            | 140,91              |
| <b>Despesas ADM. e<br/>COM. (R\$)</b>                             | 4.558             | 4.558             | 4.558             | 4.558               | 4.558             | 4.558             | 4.558             | 4.558               |
| <b>Custo total (R\$)</b>  | 30.790            | 31.790            | 30.931            | 31.931              | 33.317            | 34.317            | 33.458            | 34.458              |
| <b>Lucro médio (R\$ -<br/>receita - custo)</b>                    | 77.061,01         | 151.515,00        | 141.488,31        | 172.618,04          | 73.725,57         | 85.356,61         | 110.078,30        | 109.875,39          |

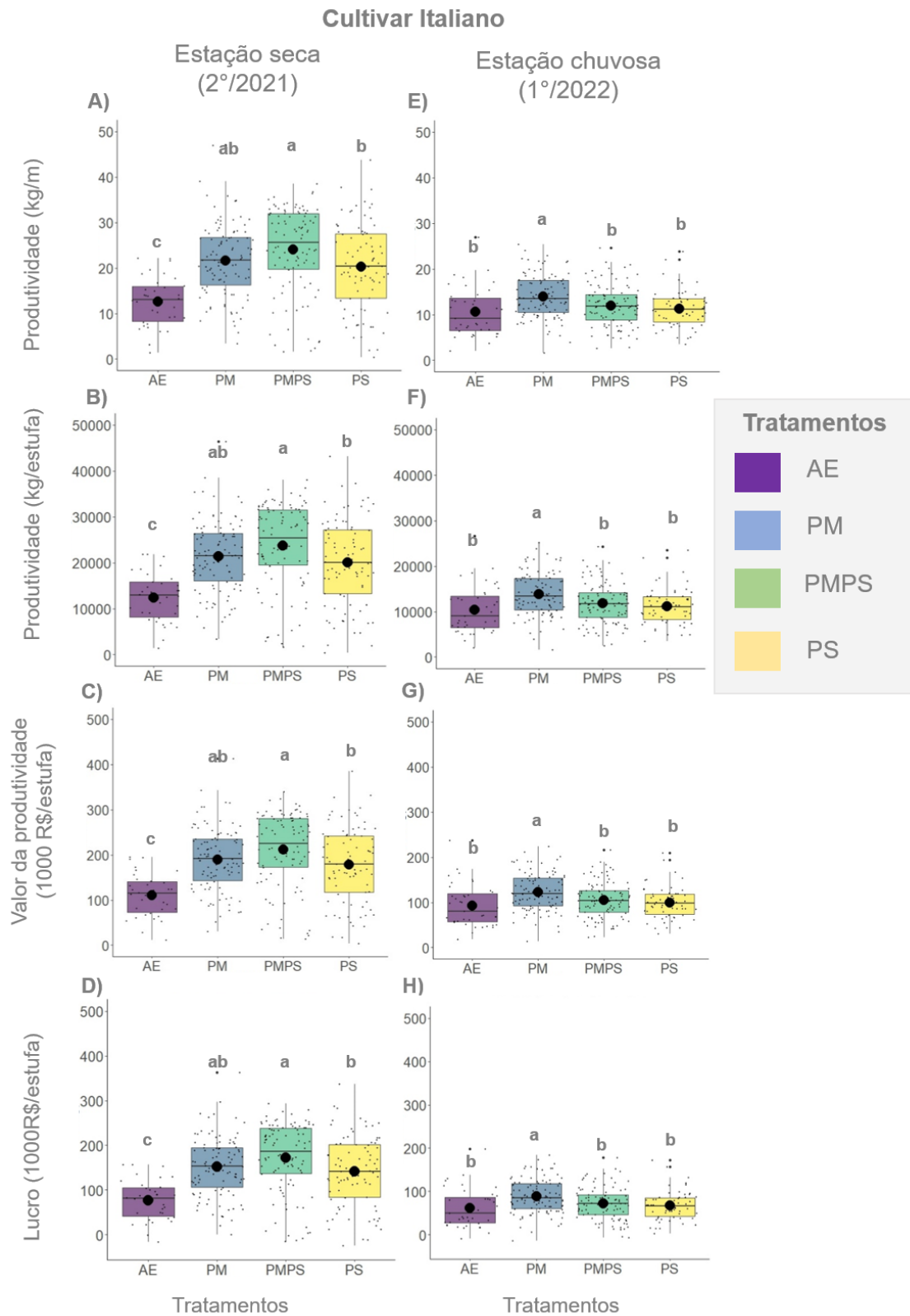
**ESTAÇÃO CHUVOSA**

| Variáveis econômicas  | Italiano          |                   |                   |                     | Cereja            |                   |                   |                     |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
|   | Cenário 1<br>(AE) | Cenário 2<br>(PM) | Cenário 3<br>(PS) | Cenário 4<br>(PMPS) | Cenário<br>1 (AE) | Cenário 2<br>(PM) | Cenário 3<br>(PS) | Cenário 4<br>(PMPS) |
| <b>Produtividade média<br/>(kg / área plantada<br/>em estufa)</b> | 10.451,17         | 13.806,37         | 11.137,3          | 11.837,12           | 3.162,12          | 3.570,37          | 3.766,60          | 3.778,37            |
| <b>Receita (R\$ -<br/>produtividade*preço<br/>médio)</b>          | 94.060,53         | 124.257,33        | 100.235,7         | 106.534,08          | 39.526,5<br>0     | 44.629,63         | 47.082,50         | 47.229,63           |
| <b>Custo geral sem o<br/>manejo de<br/>polinização (R\$)</b>      | 25.276,00         | 25.276,00         | 25.276,00         | 25.276,00           | 27.803,0<br>0     | 27.803,00         | 27.803,00         | 27.803,00           |
| <b>Custo com o manejo<br/>de abelhas (R\$)</b>                    | 0                 | 1.000             | 0                 | 1.000               | 0                 | 1.000             | 0                 | 1.000               |
| <b>Custo com o manejo<br/>do soprador (R\$)</b>                   | 0                 | 0                 | 140,91            | 140,91              | 0                 | 0                 | 140,91            | 140,91              |
| <b>Despesas ADM. e<br/>COM. (R\$)</b>                             | 4.558             | 4.558             | 4.558             | 4.558               | 4.558             | 4.558             | 4.558             | 4.558               |
| <b>Custo total (R\$)</b>  | 29.834            | 30.834            | 29.975            | 30.975              | 32.361            | 33.361            | 32.502            | 33.502              |
| <b>Lucro médio (R\$ -<br/>receita - custo)</b>                    | 61.317,51         | 88.668,91         | 66.974,34         | 72.042,49           | 8.581,54          | 12.507,33         | 15.722,63         | 14.866,35           |

3797 \*Mais detalhes sobre os custos gerais na Tabela 2.

3798

3799



3800

3801 Figura 3 – Estimativa de produtividade: produtividade (kg/metro linear) (A e E) e  
 3802 produtividade total (kg/área total plantada na estufa) (B e F); valor bruto, em R\$, da  
 3803 renda estimada para cada dado de produtividade (C e G) e valor líquido (lucro), em R\$.



3804 da renda estimada / estufa (D e H) para o tomateiro, cultivar Italiano, a partir dos dados  
3805 obtidos durante experimentos conduzidos em casa de vegetação no Distrito Federal  
3806 entre 30 de agosto a 25 de outubro de 2021 (estação seca) e entre 29 de janeiro a 22 de  
3807 março de 2022 (estação chuvosa). Os valores foram estimados a partir dos seguintes  
3808 tratamentos avaliados: autopolinização espontânea: AE (roxo), polinização por  
3809 mandaçaia: PM (azul), polinização por mandaçaia e soprador: PMPS (verde) e  
3810 polinização por soprador: PS (amarelo). Pontos pretos pequenos representam dispersão  
3811 dos dados, enquanto pontos maiores representam valores médios e barras de erro,  
3812 percentis. Letras (a,b,c) representam diferenças significativas entre tratamentos  
3813

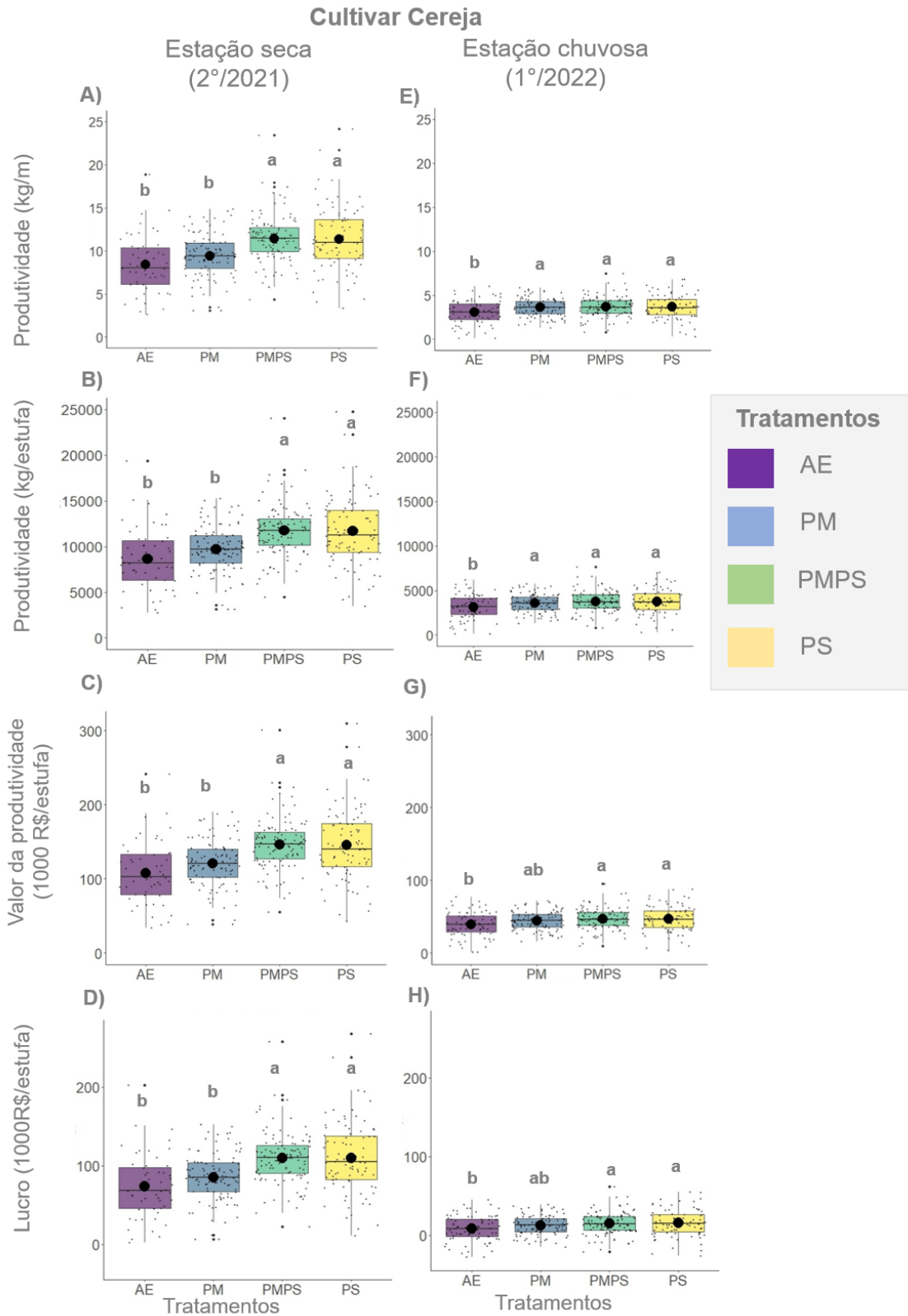
3814 Na cultivar Cereja, durante a estação seca, os tratamentos de polinização com  
3815 mandaçaia associada ao soprador ou somente com o soprador tiveram maior  
3816 produtividade por metro linear (PMPS: 11,44 kg  $\pm$  0,26; PS: 11,38 kg  $\pm$  0,40) e por área  
3817 total plantada na estufa (PMPS: 11.742,26 kg  $\pm$  266,88; PS 11.676,11 kg  $\pm$  411,69)  
3818 comparado aos tratamentos PM e AE ( $p < 0,001$ ) (Figura 4A e B). Este mesmo resultado  
3819 foi observado para as medidas econômicas. O valor médio de produtividade foi  
3820 semelhante entre os tratamentos PMPS e PS, chegando a cerca de R\$ 146.000,00, 20 e  
3821 35% maior que nos tratamentos PM e AE, respectivamente ( $F_{(3,345)} = 18,2$ ,  $p < 0,001$ ). O  
3822 lucro médio obtido por estufa seguiu o mesmo padrão, girando em torno de R\$ 120.000,00  
3823 para os tratamentos PMPS e PS, diferindo significativamente dos tratamentos PM (R\$  
3824 85.356,61  $\pm$  3.000) e AE (R\$ 73.725,57  $\pm$  5.617) ( $p < 0,001$ ), conforme ilustrado na figura  
3825 4C e D.

3826 No período da estação chuvosa não houveram diferenças na produtividade em  
3827 quilograma por metro linear e por área plantada da estufa entre os tratamentos envolvendo  
3828 a polinização por abelha e soprador e artificial (PM, PS e PMPS) nesta cultivar (em torno  
3829 de 3,60 kg/m e 3.700,00 kg/ estufa, respectivamente). Estes tratamentos, como já era  
3830 esperado, diferiram significativamente apenas do tratamento de autopolinização  
3831 espontânea (AE), com aproximadamente 3,00 kg/m e 3.162,00 kg/estufa ( $p < 0,01$ )  
3832 (Figura 4E e F). Nas medidas econômicas, o valor médio de produtividade chegou a R\$  
3833 47.229,65 no tratamento PMPS, seguido do PS, com R\$ 47.082,54, diferindo apenas do  
3834 tratamento AE, com valor médio de R\$ 39.526,62 ( $F_{(3,358)} = 4,461$ ,  $p < 0,001$ ). No lucro  
3835 médio por área plantada em estufa, os tratamentos de polinização com mandaçaia mais  
3836 soprador (PMPS) e com soprador (PS) mais uma vez obtiveram maiores valores (R\$

3837 14.866,35 e R\$ 15.722,63, respectivamente) quando comparado ao tratamento AE, com  
 3838 cerca de R\$ 8.500,00 ( $F_{(3,345)} = 17,99, p < 0,001$ ) (Figura 4E e F).

3839

3840



3841

3842 Figura 4 – Estimativa de produtividade: produtividade (kg/metro linear) (A e E) e  
3843 produtividade total (kg/área total plantada na estufa) (B e F); valor bruto, em R\$, da renda  
3844 estimada para cada dado de produtividade (C e G) e valor líquido (lucro), em R\$, da renda  
3845 estimada / área total plantada na estufa (D e H) para o tomateiro, cultivar Cereja, a partir  
3846 dos dados obtidos durante experimentos conduzidos em casa de vegetação no Distrito  
3847 Federal entre 30 de agosto a 25 de outubro de 2021 (estação seca) e entre 29 de janeiro a  
3848 22 de março de 2022 (estação chuvosa). Os valores foram estimados a partir dos seguintes  
3849 tratamentos avaliados: autopolinização espontânea: AE (roxo), polinização por  
3850 mandaçaia: PM (azul), polinização por mandaçaia e soprador: PMPS (verde) e  
3851 polinização por soprador: PS (amarelo). Pontos pretos pequenos representam dispersão  
3852 dos dados, enquanto pontos maiores representam valores médios e barras de erro,  
3853 percentis. Letras (a,b,c) representam diferenças significativas entre tratamentos.

3854

3855

## 3856 5.5 DISCUSSÃO

3857 Neste estudo, comparou-se o efeito da polinização pela abelha sem ferrão  
3858 *Melipona quadrifasciata* com a polinização por soprador ou ainda a associação de ambos  
3859 métodos sobre a taxa de frutificação, parâmetros de qualidade dos frutos, produtividade  
3860 e medidas econômicas em duas cultivares de tomateiro cultivados organicamente em  
3861 estufa. De forma geral, observou-se que os tratamentos envolvendo o uso de polinização  
3862 por abelha contribuíram para melhoria da qualidade dos frutos e aumento da  
3863 produtividade sobretudo para a cultivar Italiano. Em contrapartida, na cultivar Cereja, o  
3864 uso do soprador se mostrou mais importante. Contudo, este efeito foi mais acentuado  
3865 dependendo do período do ano em que esta avaliação foi realizada. A seguir, discute-se  
3866 sobre possíveis implicações ecológicas e econômicas dos resultados obtidos.

3867

3868

### 3869 5.5.1 Efeitos da polinização sobre a frutificação e os parâmetros de qualidade do 3870 tomateiro

3871 O papel da polinização por abelhas sem ferrão na cultura do tomateiro em estufas  
3872 já foi avaliado em diversos estudos, com destaque para o uso da abelha *Melipona*  
3873 *quadrifasciata* (DEL SARTO *et al.*, 2005; BISPO DOS SANTOS *et al.*, 2009;  
3874 MEYRELLES, 2013; BAPTISTELA, 2013; MORAES, 2014; BARTELLI *et al.*, 2014;

3875 SILVA-NETO *et al.*, 2018). A maior parte destes estudos, contudo, indicaram  
3876 dificuldades de aclimação desta abelha ao ambiente confinado. Nossos estudos, porém,  
3877 diferiram dos demais, primeiramente, por avaliar previamente as condições ambientais  
3878 ideais para a utilização desta abelha em ambientes confinados, o que provavelmente nos  
3879 permitiu explorar um melhor potencial destas abelhas como polinizadores nestes  
3880 ambientes.

3881       Em nosso estudo, a presença de um agente polinizador, seja pelas abelhas, pelo  
3882 fluxo de ar gerado pelo soprador, ou ainda pela associação de ambos, foi importante para  
3883 a formação de frutos viáveis e a melhoria na qualidade dos frutos do tomateiro quando  
3884 comparado a ausência de polinização, conforme indicado em outros estudos  
3885 (MEYRELLES, 2013; BAPTISTELA, 2013; MORAES, 2014; TONY *et al.*, 2020;  
3886 COOLEY; VALLEJO-MARIN, 2021). Sob o aspecto da qualidade do tomate, nossos  
3887 resultados estão de acordo com a maior parte dos estudos já realizados que apontaram  
3888 para um incremento do peso e da massa seca de sementes dos tomates a partir da  
3889 polinização por esta abelha quando comparado a ausência de polinização ou a polinização  
3890 por vibração manual ou com soprador. Os resultados, portanto, reforçam o potencial uso  
3891 desta espécie de abelha sem ferrão para o incremento da produção do tomateiro em estufa.

3892       O primeiro experimento em estufa que avaliou o efeito de diferentes tratamentos  
3893 de polinização com abelhas sem ferrão na cultura do tomateiro no Brasil foi realizado por  
3894 Del Sarto *et al* (2005). Este experimento ocorreu em uma estufa de 234 m<sup>2</sup> e três metros  
3895 de altura com a cultivar Rodas (híbrido longa-vida), onde observou-se que a polinização  
3896 por *M. quadrifasciata* não contribuiu para a melhora da qualidade dos frutos avaliados  
3897 comparado ao tratamento de polinização por vibração manual. Segundo os autores, a  
3898 baixa sobreposição temporal entre o período de maior receptividade estigmática floral da  
3899 cultivar avaliada e o horário de maior atividade das abelhas forrageiras foi um dos fatores  
3900 que provavelmente reduziu a eficiência das abelhas. Embora a hipótese levantada reforce  
3901 a necessidade do entendimento de aspectos da biologia floral da cultivar avaliada visando  
3902 aumentar o sucesso do serviço de polinização assistida, tal estudo apresentou algumas  
3903 limitações metodológicas, como por exemplo, o baixo esforço amostral (N total = 47  
3904 frutos, sendo 16 por tratamento), tornando os resultados pouco conclusivos. Em outro  
3905 estudo, Bartelli *et al* (2014b), em uma estufa com 1.344 m<sup>2</sup>, compararam o papel da  
3906 polinização realizada com soprador com a polinização deste aliado à visitação de *M.*  
3907 *quadrifasciata* em tomateiro (cultivar Grape). De acordo com os autores, as flores  
3908 polinizadas pelas abelhas tiveram maior número de sementes.

3909 Em nosso estudo, o número de sementes foi um dos atributos de qualidade dos  
3910 frutos mais associado à ação da polinização por *M. quadrifasciata*. Na cultivar Italiano,  
3911 por exemplo, o tratamento somente com abelha (PM) aumentou em 178% o número  
3912 médio de sementes quando comparado ao tratamento sem polinização (AE), e em cerca  
3913 de 59% em relação ao tratamento somente com o soprador (PS). Em estudos com o  
3914 tomateiro, alguns atributos são apontados como importantes indicadores da eficiência da  
3915 polinização. O número e massa seca de sementes, por exemplo, são determinados pelo  
3916 número de óvulos fertilizados por flor, sendo fortemente influenciados pela ação dos  
3917 polinizadores. Del Sarto *et al* (2005) avaliaram que tais atributos, aliados ao peso do fruto,  
3918 são positivamente correlacionados, embora o peso, segundo os autores, também possa ser  
3919 influenciado por outros fatores além da polinização (*e.g.* condições ambientais). Assim,  
3920 nossos resultados indicam um enorme potencial do uso destas abelhas para outros setores  
3921 de produção nesta cultura, como a venda de sementes para a produção de mudas.

3922 Os resultados da polinização realizada pela abelha mandaçaia podem variar em  
3923 função da cultivar de tomateiro. Na cultivar Italiano, todos os atributos foram maiores no  
3924 tratamento apenas com a polinização pela abelha (PM) ou quando associou-se a abelha  
3925 com o soprador (PMPS), com exceção do comprimento do fruto, que não diferiu entre  
3926 tratamentos com polinização. Já na cultivar Cereja, observou-se uma maior contribuição  
3927 dos tratamentos envolvendo o uso do soprador (*e.g.* maior peso e comprimento médio dos  
3928 tomates). Estes resultados sugerem que pode haver um maior grau de dependência da  
3929 polinização por abelha para a cultivar Italiano comparado a cultivar Cereja. Ao comparar  
3930 diferentes tratamentos de polinização em uma estufa de 60m<sup>2</sup> e 3,5m de altura na região  
3931 de Franca - SP, Baptistela (2013) encontrou resultados semelhantes ao observar que o  
3932 peso dos frutos no tratamento de polinização pela abelha *M. quadrifasciata* foi maior  
3933 apenas na cultivar Italiano (híbrido Débora), em comparação a cultivar Cereja (híbrido  
3934 Mascot).

3935 Atributos florais (*e.g.* morfologia, display, cor, odor floral) são importantes para  
3936 determinar a atração dos polinizadores às flores na busca por recursos, podendo afetar o  
3937 sucesso de polinização e conseqüentemente, a produção agrícola (MORSE *et al.*, 2012;  
3938 FERNANDES, 2017). Em nosso estudo, as cultivares de tomateiro avaliadas diferiram  
3939 no número de flores por planta, tamanho das partes florais e quantidade de recurso (pólen)  
3940 por flor (ver capítulo 3). Tais diferenças provavelmente foram responsáveis por uma  
3941 maior frequência de visitas das abelhas *M. quadrifasciata* às flores da cultivar Italiano,  
3942 configurando um evento de competição entre cultivares, e aumentando assim, o déficit de

3943 polinização em flores da cultivar menos visitada. Este resultado talvez justifique um  
3944 menor incremento na qualidade dos frutos e na produtividade no tratamento de  
3945 polinização por abelha comparado ao soprador na cultivar Cereja. Em estudo feito com  
3946 diferentes cultivares de meloeiro em campo experimental de Pacajus, na Embrapa  
3947 Agroindústria Tropical - CE, observou-se que a cultivar mais visitada pela abelha *Apis*  
3948 *mellifera* (Cantaloupe) apresentou maior número de frutos comerciais comparado a  
3949 cultivar menos visitada (Charentais) (FERNANDES, 2017).

3950 Além dos fatores já citados, diferentes parâmetros relacionados aos polinizadores,  
3951 como o número de visitas e tempo de residência na flor, o tipo de comportamento  
3952 realizado durante a coleta dos recursos florais, a densidade ou ainda o tipo de polinizador,  
3953 podem ser determinantes para a efetividade do serviço de polinização, afetando assim,  
3954 quantidade e qualidade dos frutos produzidos. Embora o número de visitas feito pelo  
3955 polinizador normalmente esteja associado com maior sucesso de polinização nas flores  
3956 (VAISSIÈRE *et al.*, 2011), tal fator é dependente da espécie de planta avaliada. Nas  
3957 culturas *Solanum melongena* L. (berinjela) e *L. esculentum* (tomateiro), ambos da família  
3958 Solanaceae, estudos indicam que uma única visita por abelhas do gênero *Melipona* é  
3959 suficiente para garantir a frutificação e qualidade dos frutos (BAPTISTELA, 2013;  
3960 NUNES-SILVA *et al.*, 2013; MORAES, 2014). O mesmo padrão já foi visto em estudo  
3961 feito por Morandin *et al* (2002) ao avaliar a intensidade de visita de abelhas da espécie  
3962 *Bombus impatiens* na polinização do tomateiro em estufa no Canadá.

3963 Avaliando outro aspecto comportamental, Baptistela (2013) identificou uma  
3964 relação positiva entre a duração das visitas às flores por *M. quadrifasciata* com o peso  
3965 dos frutos produzidos para diferentes cultivares de tomateiro. Ao comparar o efeito da  
3966 polinização por *M. quadrifasciata* com a feita por *Apis mellifera* sobre a produção na  
3967 cultura do tomateiro, Bispo dos Santos *et al* (2009) observaram que a frutos polinizados  
3968 pela *Melipona* tiveram um aumento de peso variando entre 32-50%, enquanto que para  
3969 *A. mellifera*, este aumento foi de até 31%, quando comparado a ausência de polinização.  
3970 Tal resultado provavelmente seja decorrente do tempo de visita, bem como do tipo de  
3971 comportamento realizado pela abelha na flor, uma vez que a abelha *A. mellifera* não  
3972 consegue realizar o comportamento de vibração nas flores. Em outro estudo feito com  
3973 diferentes espécies de meliponíneos em uma estufa de 108 m<sup>2</sup> e 5,2 m de altura, observou-  
3974 se que a abelha sem ferrão *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (1836) polinizou as  
3975 flores do tomateiro (cultivar Cherry, híbrido Chipano) mesmo sem realizar o  
3976 comportamento de vibração, gerando frutos equivalentes aqueles polinizados por

3977 *Melipona bicolor* Lepeletier (1836) que realiza este comportamento (MOURA-  
3978 MORAES *et al.*, 2021). Estudos futuros poderão avançar nas análises de tais parâmetros  
3979 comportamentais, comparando, por exemplo, a polinização realizada por diferentes  
3980 espécies de abelhas e seus efeitos sobre a produção das cultivares de tomateiro avaliadas  
3981 em nosso estudo.

3982 Além dos atributos físicos dos frutos, existem ainda atributos químicos que podem  
3983 ser importantes indicadores de qualidade dos mesmos, como a acidez total ou teor de  
3984 sólidos solúveis. Os sólidos solúveis (SS) indicam a quantidade dos sólidos, constituídos  
3985 principalmente por açúcares, que estão dissolvidos no suco ou polpa dos frutos, podendo  
3986 variar de acordo com a espécie, cultivar, estágio de maturação e clima (CHITARRA;  
3987 CHITARRA, 2005). No tomateiro, o valor de SS, expresso em °Brix, costuma variar entre  
3988 4 – 6, embora para algumas cultivares específicas, pode chegar entre 9 – 12  
3989 (MEYRELLES, 2013). Na fazenda Malunga, onde os experimentos foram realizados,  
3990 considera-se um °Brix adequado acima de 5, e este atributo tem sido utilizado como  
3991 parâmetro para o aumento do valor de mercado de tomates da cultivar Cereja. Todos os  
3992 tratamentos obtiveram valores médios de SS acima de 5, o que indica uma boa qualidade  
3993 dos frutos produzidos, mesmo no tratamento sem polinização. Contudo, durante a estação  
3994 seca, identificou-se uma redução significativa no valor de SS no tratamento de  
3995 polinização por soprador (PS) em relação aos demais tratamentos avaliados, chegando a  
3996 uma redução de 11% quando comparado ao tratamento sem polinização (AE). De acordo  
3997 com Velimirov *et al* (2005), tais resultados provavelmente sejam explicados pelo fato de  
3998 frutos maiores e mais pesados (em nosso caso, àqueles polinizados pelo soprador na  
3999 cultivar Cereja) sofrerem um efeito de “diluição” dos açúcares.

4000

4001

## 4002 **5.5.2 Efeitos da polinização sobre a produtividade do tomateiro e medidas** 4003 **econômicas**

4004 Os resultados de produtividade também mostraram diferenças entre tratamentos  
4005 com padrões variados a depender de cultivar, mas sobretudo, da estação do ano avaliada.  
4006 Em geral, a produtividade foi maior na estação seca comparada à estação chuvosa em  
4007 todos os tratamentos de polinização em ambas cultivares. Na cultivar Italiano, durante o  
4008 período experimental na estação seca, a produtividade no tratamento com polinização por  
4009 abelha associado ao soprador (PMPS) foi sempre maior quando comparado a polinização

4010 apenas pelo soprador (PS) ou à ausência de polinização (AE), não diferindo da  
4011 polinização apenas pela abelha (PM). Contudo, na estação chuvosa, a maior  
4012 produtividade ocorreu apenas no tratamento de polinização somente por abelha, enquanto  
4013 que o tratamento PMPS não diferiu do PS. Tais diferenças provavelmente sejam resultado  
4014 dos efeitos de condições ambientais desfavoráveis aliados a questões de manejo para o  
4015 controle de pragas.

4016 Uma vez que fatores ambientais (*i.e.* temperatura, umidade e luminosidade),  
4017 podem afetar performance das abelhas no serviço de polinização (DAG, 2008;  
4018 KENDALL *et al.*, 2021), variações nas condições internas de estufa em diferentes épocas  
4019 do ano poderiam explicar mudanças de produtividade do tomateiro. Em nosso estudo, as  
4020 variações ambientais registradas ocorreram predominantemente em faixas de temperatura  
4021 mínimas (mínima de 11.8°C na estação seca e 19.2°C na estação chuvosa) durante o início  
4022 do dia, onde as forrageiras de *M. quadrifasciata* são mais ativas. Contudo, esta espécie,  
4023 assim como outras do gênero *Melipona*, conseguem forragear em temperaturas mais  
4024 baixas (entre 11 - 13°C), (GUIBU; IMPERATRIZ-FONSECA, 1984; HILÁRIO *et al.*,  
4025 2001), sendo mais limitadas por temperaturas elevadas (a partir de 30°C). Desta forma,  
4026 as variações nas condições ambientais da estufa avaliada em nosso estudo aparentemente  
4027 não foram responsáveis por mudanças na atividade das abelhas manejadas, mas podem  
4028 ter contribuído para diferenças na incidência de pragas entre os períodos amostrados.

4029 A cultura do tomateiro é conhecida por sua elevada susceptibilidade ao ataque de  
4030 inúmeras pragas, podendo causar reduções na produtividade e qualidade dos frutos  
4031 (SILVA *et al.*, 2003). A traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*), por exemplo, é tida como  
4032 importante praga nesta cultura e costuma ocorrer durante todo o ano, especialmente no  
4033 período mais seco (SILVA *et al.*, 2003). Em nossa área de estudo, foi observada uma  
4034 grande incidência desta e de outras pragas no período da estação chuvosa, sobretudo para  
4035 a cultivar Italiano (ver Tabela 2). Segundo informações fornecidas pelos funcionários da  
4036 fazenda, houve um controle menos eficiente das pragas durante este período (*i.e.* menor  
4037 aplicação de defensivos biológicos). Tal fator pode ter contribuído para as diferenças de  
4038 produtividade entre os períodos avaliados para ambas cultivares. Além do mais, é comum  
4039 que a aplicação do soprador seja interrompida em períodos de alta incidência de pragas,  
4040 uma vez que a corrente de vento gerado pelo mesmo pode acelerar a disseminação de  
4041 algumas pragas, como esporos de fungos patogênicos (informações dadas pelos  
4042 funcionários da Fazenda Malunga). Ao utilizarmos o soprador, as flores do tratamento  
4043 PMPS ficavam mais expostas ao vento por não permanecerem ensacadas, o que pode ter



4044 contribuído para um maior número de frutos com registros de ataque de pragas (ver  
4045 Tabela 2), e conseqüentemente, para as baixas de produtividade identificadas neste  
4046 tratamento durante a estação chuvosa quando comparado a estação seca para a cultivar  
4047 Italiano. Apesar da redução na produtividade frente a fatores adversos entre estações, este  
4048 efeito foi atenuado na cultivar Italiano por meio da polinização por abelha, reforçando  
4049 seu potencial uso mesmo em períodos de maior vulnerabilidade da cultura ao ataque de  
4050 pragas (ver Figura 3). Estudos futuros poderão explorar a relação entre o uso do soprador  
4051 com a disseminação de doenças na cultura do tomateiro e seus impactos sobre a produção.

4052 Outro fator que pode ter influenciado nas diferenças de produtividade entre  
4053 estações do ano para ambas cultivares refere-se as diferenças na seleção de  
4054 inflorescências e botões florais entre experimentos. Apesar de termos iniciado a  
4055 amostragem em uma fase do ciclo da cultura do tomateiro semelhante entre os períodos  
4056 de experimento, observou-se um crescimento acelerado das plantas de tomateiro no  
4057 período da estação chuvosa para ambas cultivares. Segundo funcionários da fazenda,  
4058 eventos irregulares de chuva neste período teriam sido responsáveis por esta resposta  
4059 fisiológica das plantas. Desta forma, selecionou-se com menor frequência as primeiras  
4060 inflorescências do meio do ciclo (entre 3° - 5°), bem como os primeiros botões florais  
4061 destas inflorescências (1° - 5°) neste período. Considerando que pode haver uma redução  
4062 no investimento reprodutivo de plantas do tomateiro ao longo do ciclo (VICENTE *et al.*,  
4063 2015; MORAES, 2014), a seleção de inflorescências e botões florais mais tardios com  
4064 maior frequência pode ter resultado em frutos de menor tamanho em ambas cultivares  
4065 avaliadas durante a estação chuvosa.

4066 Na cultivar Cereja, obteve-se um incremento da produtividade nos tratamentos  
4067 envolvendo o uso do soprador (PMPS e PS) em relação ao tratamento AE nas duas  
4068 estações. Contudo, na comparação com o tratamento PM, esta diferença só foi vista  
4069 durante a estação seca (Figura 4A e B). Conforme já descrito anteriormente, outros  
4070 estudos feitos com a mesma cultivar indicam que há incremento na quantidade e  
4071 qualidade dos tomates produzidos a partir a polinização com a abelha mandaçaia  
4072 (BAPTISTELA, 2013; MEYRELLES, 2013). Tais resultados reforçam a necessidade de  
4073 investigar se o baixo incremento na produtividade desta cultivar pela polinização da  
4074 abelha foi influenciada pela presença da outra cultivar na mesma estufa. Experimentos  
4075 futuros poderão testar o uso exclusivo da cultivar Cereja em estufa a fim de comparar se  
4076 o efeito da polinização pela abelha se mantém menor ou igual ao do soprador nestas  
4077 condições. Sob as diferenças do efeito da polinização pela abelha entre estações nesta

4078 cultivar, é possível que assim como na cultivar Italiano, a presença das abelhas seja uma  
4079 alternativa para amenizar as perdas de produção em períodos de maior ataque de pragas.

4080 Até o ano de 2009, a cultura do tomateiro ainda era considerada como tendo baixa  
4081 dependência do serviço de polinização por animais (0,05), ou seja, com ganhos de  
4082 produtividade a partir do serviço de polinização estimados entre 0 - 10% (GALLAI;  
4083 VAISSIERE, 2009). Esta avaliação foi feita com base no método da taxa de dependência  
4084 (KLEIN *et al.*, 2007). Mais recentemente, a partir do estudo de Silva-Neto *et al* (2013), a  
4085 taxa de dependência de polinizadores nesta cultura passou a ser considerada como elevada  
4086 (0,65, ganhos de 40 – 90%), e seu valor econômico, estimado em mais de US\$  
4087 900.000,000 no Brasil (GIANNINI *et al.*, 2015), embora não considerem possíveis  
4088 variações de dependência entre diferentes cultivares desta cultura. Nossos resultados de  
4089 produtividade média corroboram com esta mudança proposta na taxa de dependência,  
4090 uma vez que para a cultivar Italiano, foram observados ganhos de até 91% no tratamento  
4091 PMPS em comparação ao tratamento AE, e de 71% no tratamento PM em relação ao  
4092 tratamento de AE. Mesmo na cultivar Cereja, que foi menos beneficiada pelo serviço de  
4093 polinização exclusivo por abelha, os ganhos percentuais chegaram a 36% entre PMPS e  
4094 AE, e de cerca de 12% na comparação do PMPS com PM ou AE, durante a estação seca.  
4095 Considerando as variações de benefícios entre as cultivares observadas, tais resultados  
4096 ressaltam que a cultura do tomateiro deve ser considerada ao menos como tendo modesta  
4097 dependência do serviço de polinização, com ganhos entre 10 – 40%.

4098 Embora já se tenha avaliado a contribuição da polinização para o valor de  
4099 produção da cultura do tomateiro, o método de avaliação econômico utilizado por  
4100 Giannini *et al* (2015) aplica-se sobretudo aos benefícios oriundos da polinização em  
4101 níveis mais elevados (*i.e.* escala nacional). Tal método não considera aspectos  
4102 específicos, da propriedade, que são avaliados dentro da escala local, como o uso de  
4103 determinados insumos (*e.g.* fertilizantes, pesticidas, trabalho), sua relação com o serviço  
4104 de polinização, além da inclusão deste como insumo para a produção agrícola (HEIN,  
4105 2009). Os estudos, que consideram a polinização como um tipo de insumo, utilizam o  
4106 método de função de produção, sendo considerados mais coerentes na escala local, e já  
4107 foram aplicados, por exemplo, na avaliação da produção do café (RICKETTS *et al.*,  
4108 2004), da melancia (WINFREE *et al.*, 2011), e do feijão (SILVA, 2019).

4109 Nosso estudo é pioneiro no uso desta mesma abordagem para a cultura do  
4110 tomateiro, com adaptações conforme proposto por Martinez *et al* (2019). Com base nesta  
4111 metodologia, pôde-se comparar diferentes cenários de investimento para o uso de agentes

4112 polinizadores (*i.e.* soprador, abelha ou ambos) no ciclo de produção do tomateiro em  
4113 estufa. Nossos resultados mostraram que para a cultivar Italiano, o valor médio de  
4114 produção no tratamento PMPS foi superior a 90% quando comparado ao tratamento AE,  
4115 18% em relação ao tratamento PS, e 11%, comparado ao tratamento PM. Em termos de  
4116 lucratividade, o uso concomitante dos dois agentes polinizadores gerou ganhos superiores  
4117 à R\$ 172.000,00, valor 124% maior que na ausência de polinizadores, 22% maior em  
4118 relação ao uso de soprador e 13% em relação ao uso exclusivo de abelhas. Estes dados  
4119 evidenciam que o uso associado de dois agentes polinizadores foi altamente significativo  
4120 do ponto de vista de ganhos monetários de produção para esta cultivar, corroborando com  
4121 a nossa terceira hipótese.

4122 Na cultivar Cereja, porém, o lucro obtido a partir da utilização de ambos agentes  
4123 polinizadores ou apenas do soprador foi aproximadamente 50% maior em relação a  
4124 ausência de polinização, valor muito maior quando comparado apenas ao uso da abelha  
4125 (*i.e.* diferença de valor de 15%). Na estação chuvosa, esta diferença se tornou mais  
4126 expressiva, de forma que o lucro obtido a partir da polinização por ambos agentes  
4127 polinizadores ou apenas o soprador chegou a mais de 80% comparado a ausência de  
4128 polinizador, enquanto que o ganho a partir da polinização exclusiva por abelha obteve  
4129 lucro de 45%. Tais condições mostram que o uso do soprador ou este aliado ao manejo  
4130 da abelha são as práticas mais rentáveis para o produtor nesta cultivar. Contudo, ganhos  
4131 de até 30% já são considerados como representativos (informação dada por um dos  
4132 proprietários da Fazenda Malunga), indicando que o uso da polinização por abelha  
4133 também é uma alternativa viável para o produtor nesta cultivar, sobretudo em situação de  
4134 suspensão do uso do soprador em períodos de maior incidência de pragas.

4135 Além do mais, com base no experimento feito com inserção gradual de caixas de  
4136 abelhas *M. quadrifasciata* (ver capítulo 3), observou-se que após a inserção de 18 caixas,  
4137 praticamente o dobro de caixas de abelhas comparado às 10 caixas de abelhas utilizadas  
4138 nos experimentos da avaliação econômica, houve um aumento no número de visitas às  
4139 flores de ambas cultivares. Na cultivar Italiano, 50% das flores foram visitadas a partir da  
4140 introdução de 12 caixas de abelhas, enquanto que na cultivar Cereja, este valor só foi  
4141 alcançado após a instalação de 18 caixas na estufa. Tais resultados poderão servir de base  
4142 para o desenvolvimento de um plano de manejo o uso destas abelhas para polinização  
4143 nestes sistemas. Estudos futuros poderão considerar os custos ligados ao aumento do  
4144 número de caixas para a polinização, visando identificar um potencial de incremento da

4145 produtividade média e conseqüentemente, do valor econômico associado ao aumento do  
4146 serviço de polinização para ambas cultivares com o aumento do número de caixas.

4147

### 4148 **5.5.3 Implicações ecológicas e econômicas associadas a suplementação do serviço** 4149 **polinização por abelhas em estufas**

4150 A suplementação dos serviços de polinização por abelhas, como alternativa para  
4151 o incremento da produtividade e qualidade dos frutos e sementes produzidas, já é uma  
4152 prática bastante utilizada ao redor do mundo (COOLEY; VALLEJO-MARIN, 2021). Em  
4153 cultivos dependentes de polinização que sejam produzidos em estufas, esta introdução é  
4154 ainda mais importante, uma vez que os polinizadores que ocorrem nas áreas do entorno  
4155 das casas de vegetação são impedidos de acessar as flores (NETO *et al.*, 2018).

4156 Na Europa, por exemplo, o uso comercial em larga escala de espécies de *Bombus*,  
4157 conhecidas popularmente como mamangavas (em especial, *Bombus terrestris*) já é uma  
4158 realidade desde os anos 80, sendo considerado a principal prática de incremento da  
4159 produção do tomateiro (VELTHIUS; VAN DOORN, 2006). Na América do Norte, por  
4160 outro lado, houveram tentativas de introdução da espécie *B. terrestris*, mas devido a  
4161 impactos ecológicos (*i.e.* disseminação de patógenos e competição com espécies nativas),  
4162 sua importação foi rapidamente suspensa (VELTHIUS; VAN DOORN, 2006). Além das  
4163 conseqüências da introdução desta espécie exótica, a alta demanda e uso de um número  
4164 restrito de espécies nativas para o serviço de polinização nesta cultura levou a graves  
4165 declínios de populações locais, como o que ocorreu com *Bombus occidentalis*  
4166 (STRANGE, 2015). Tais exemplos reforçam a necessidade do avanço do conhecimento  
4167 de aspectos da biologia e ecologia das diferentes espécies de abelhas, com ênfase para  
4168 espécies nativas, como forma de garantir o provimento de serviços de polinização  
4169 assistida de forma mais robusta e resiliente, sobretudo em países megadiversos, como o  
4170 Brasil (MYERS, 2001).

4171 Além da aquisição de caixas de abelhas manejadas para fornecer o serviço de  
4172 polinização, outras alternativas podem ser implementadas visando reduzir os custos no  
4173 investimento deste serviço, e assim manter, ou até mesmo aumentar os lucros para o  
4174 produtor que queira se beneficiar deste serviço em estufas. No caso de espécies de abelhas  
4175 sociais e perenes, como é o caso da abelha *Apis mellifera* e dos meliponíneos, outra opção  
4176 consiste no aluguel de caixas de abelhas. Tal prática envolve a introdução das caixas  
4177 apenas no período de floração do cultivo-alvo, com a posterior devolução ao fornecedor,

4178 podendo assim, reduzir gastos oriundos da compra e manutenção das colmeias em médio  
4179 e longo prazo. Nos Estados Unidos, os preços envolvendo o aluguel de uma colmeia de  
4180 *A. mellifera* variam entre US\$ 40 A US\$ 200 por mês ou por florada, a depender da cultura  
4181 agrícola a ser polinizada (NETO *et al.*, 2018). No Brasil, esse modelo de polinização já é  
4182 adotado para a polinização da maçã no Sul, e de melão, no Nordeste, com enorme  
4183 potencial de crescimento para outras culturas e espécies de abelhas (NETO *et al.*, 2018).  
4184 Outros exemplos de culturas que já têm sido testadas e beneficiadas por essa prática  
4185 utilizando a espécie *A. mellifera* são o café, girassol, morango, ou soja (AGROBEE,  
4186 2022).

4187 Pouco ainda se sabe sobre os gastos envolvidos com o aluguel de caixas de abelhas  
4188 sem ferrão. Uma vez que os custos para o aluguel de ninhos podem diferir entre diferentes  
4189 espécies de abelhas, devido, por exemplo, a diferenças no tamanho populacional ou de  
4190 acordo com a cultura, que variam em dependência da polinização e tempo de floração,  
4191 novos estudos nesta temática precisam ser feitos com as abelhas sem ferrão. Outro aspecto  
4192 limitante no uso destas abelhas em escala comercial refere-se a dificuldade de obter um  
4193 número suficiente de colônias. Novas tecnologias ligadas a multiplicação de colônias  
4194 serão importantes para permitir o avanço do mercado da polinização assistida por abelhas.  
4195 Além disto, o avanço em pesquisas e uso da polinização assistida por abelhas requerem  
4196 cuidados para evitar problemas ecológicos como a transmissão de novos patógenos e  
4197 parasitas, disseminação de espécies exóticas, redução da variabilidade genética das  
4198 populações de abelhas, entre outros (NETO *et al.*, 2018). Novas tecnologias, como a  
4199 abordagem do “entomovetor” (utilização de insetos polinizadores para atuarem no  
4200 controle biológico) também podem ser alternativas futuras promissoras para reduzir as  
4201 perdas de produção em culturas muito afetadas pelo ataque de pragas, como no caso da  
4202 cultura do tomateiro, ao fornecer múltiplos serviços ecossistêmicos a partir do manejo de  
4203 caixas de abelhas (SMAGGHE *et al.*, 2012).

4204

## 4205 5.6 CONCLUSÕES

4206 Conclui-se que a polinização assistida pela abelha *Melipona quadrifasciata*  
4207 associada ao uso do soprador é uma alternativa economicamente viável para produtores  
4208 orgânicos de tomateiro em estufas, uma vez que foram observadas melhorias da qualidade  
4209 dos frutos, na produtividade, além da maior lucratividade comparado aos demais  
4210 tratamentos. Tal efeito, porém, diferiu entre cultivares, sendo a polinização pela abelha  
4211 mais importante para a cultivar Italiano em comparação com a cultivar Cereja. Mesmo

4212 para a cultivar com menor ganho pelo uso da abelha, ressalta-se que em situações de  
 4213 maior incidência de pragas durante o ciclo da cultura ou em determinados períodos ao  
 4214 longo do ano, o uso exclusivo da polinização assistida (*i.e.* pela abelha *M. quadrifasciata*)  
 4215 pode ser uma alternativa mais indicada em relação ao uso do soprador (polinização  
 4216 artificial). Recomenda-se ainda que estudos futuros possam avaliar a polinização desta  
 4217 espécie de abelha na cultivar Cereja cultivada isoladamente em estufas a fim de confirmar  
 4218 se as diferenças encontradas em nosso estudo são decorrentes da competição  
 4219 intraespecífica entre cultivares, ou ainda de graus de dependência da polinização por  
 4220 abelha variados entre as mesmas. As informações contidas neste estudo fornecem  
 4221 informações básicas que poderão ser utilizadas na elaboração de planos de manejo que  
 4222 auxiliem pequenos, médios e grandes produtores orgânicos em ambientes protegidos para  
 4223 terem êxito no uso sustentável das abelhas sem ferrão visando o maior ganho de produção  
 4224 e econômico.

4225

4226

## 4227 5.7 REFERÊNCIAS

4228 AGROBEE (2022). Disponível em: <https://www.agrobee.net/blog/>

4229 AMANO, K.; NEMOTO, T.; HEARD, T.A. What are Stingless bees, and why and how  
 4230 to use them a crop pollinators? – A review. **Japan Agricultural Research Quarterly**,  
 4231 n. 34, 2000, p. 183-190.

4232 ÁVILA, A.C. *et al.* A cultura do tomate, 2022, Disponível em:  
 4233 <https://www.embrapa.br/hortalicas/tomate-de-mesa/cultivares2>

4234 BAPTISTELLA, A.R.T. de O. **Uso e eficiência de abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponini) na polinização do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill. Solanaceae) sob cultivo protegido.** Tese de doutorado. Ribeirão Preto, 2013.

4237 BARTELLI, B.F.; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. Colony performance of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a Green-house of *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). **Sociobiology**, n. 1, v. 61, 2014a, p. 60-67.

4240 BARTELLI, B.F.; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. Pollination services provided by  
 4241 *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses with  
 4242 *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). **Sociobiology**, n. 4, v. 61, 2014b, 510-516.

4243 BATES, D.; MAECHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting Linear Mixed-  
 4244 Effects Models using lme4. **Journal of Statistical Software**, n. 1, v. 67, 2015, p. 1-48.  
 4245 doi:10.18637/jss.v067.j01

- 4246 BEN-YAKIR, D.; FERERES, A. The effects of UV radiation on arthropods: a review of  
4247 recent publications (2010-2015). **Acta Horticulturae**, v. 1134, 2016, p. 335-342.
- 4248 BISPO DOS SANTOS, S.A. *et al.* Pollination of tomatoes by the stingless bee  
4249 *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae).  
4250 **Genetics and Molecular Research**, n. 2, v. 8, 2009, p. 751-757.
- 4251 BPBES. **Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de**  
4252 **Alimentos no Brasil**. 1ª ed, São Carlos, SP: Editora Cubo, 2019.  
4253 <http://doi.org/10.4322/978-85-60064-83-0>
- 4254 BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análises de*  
4255 *sementes*. Brasília: SNDA/ DNDV/CLAV, 2009. 399p.
- 4256
- 4257 CHANG, J. *et al.* Does growing vegetables in planstvic greenhouses enhance regional  
4258 ecosystem services beyond the food supply? **Frontiers in Ecology and the**  
4259 **Environment**, v. 11, 2013, p. 43-49.
- 4260 CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças:  
4261 fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005. 785 p.
- 4262 COOLEY, H.; VALLEJO-MARÍN, M. Buzz-Pollinated Crops: A Global Review and  
4263 Meta-analysis of the Effects of Supplemental Bee Pollination in Tomato. **Journal of**  
4264 **Economic Entomology**, v. 114, 2021, p. 505-519.
- 4265 COSTANZA, R. *et al.* The value of the world's ecosystem services and natural capital.  
4266 **Nature**, v. 387, 1997, p. 253–260.
- 4267 CRUZ, D.O. *et al.* Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on  
4268 greenhouse sweet pepper. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 12, v. 40, 2005, p.  
4269 1197-1201.
- 4270 SILVA, J.B.C. *et al.* Cultivo de tomate para Industrialização. Embrapa Hortaliças,  
4271 Sistemas de Produção, 1-2º ed. 2003.
- 4272 DEL SARTO, M.C.L. *et al.* Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona*  
4273 *quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal**  
4274 **of Economic Entomology**, n. 2, v. 98, 2005, 260-266.
- 4275 GAGLIANONE, M.C., *et al.* Plano de manejo para os polinizadores do tomateiro. 2015.  
4276 **Funbio**, Rio de Janeiro. p. 1-48.
- 4277 FAOSTATS. (2017). Crops. In: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- 4278 FREE, J.B. **Insect pollination of crops**. London: Academic Press, 1993.
- 4279 FERNANDES, N.S. **Atração e visitação da abelha *Apis mellifera* a flores de cinco**  
4280 **tipos comerciais de meloeiro (*Cucumis melo*)**. Tese de doutorado, 2017.

- 4281 GIANNINI, T.C., *et al.* The dependence of crops for pollinators and the economic value  
4282 of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, 2015, p. 849-857.
- 4283 HARTIG, F. DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed)  
4284 Regression Models, 2020. R package version 0.3.2.0. [https://CRAN.R-](https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA)  
4285 [project.org/package=DHARMA](https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA)
- 4286 HEIN, L. The economic value of the pollination service, a review across scales. **The**  
4287 **Open Ecology Journal**, v. 2, 2009, p. 74–82.
- 4288 IPBES. Summary for policymakers of the assessment report of the Intergovernmental  
4289 Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators,  
4290 pollination and food production. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, H. T. Ngo, J. C.  
4291 Biesmeijer, T. D. Breeze, L. V. Dicks, L. A. Garibaldi, R. Hill, J. Settele, A. J.  
4292 Vanbergen, M. A. Aizen, S. A. Cunningham, C. Eardley, B. M. Freitas, N. Gallai, P. G.  
4293 Kevan, A. Kovacs-Hostyanszki, P. K. Kwapong, J. Li, X. Li, D. J. Martins, G. Nates-  
4294 Parra, J. S. Pettis, R. Rader, and B. F. Viana (eds.). Secretariat of the Intergovernmental  
4295 Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany,  
4296 2016, p. 36.
- 4297 JAMES, R.R.; PITTS-SINGER, T.L. **Bee pollination in Agricultural Ecosystems.**  
4298 Oxford University Press, New York, 2008, p. 247.
- 4299 MARTINEZ, G.A.; ALMEIDA, T.B. de; MACHRY, M. **Viabilidade econômica e**  
4300 **financeira da produção de tomate italiano em Guararema – SP.** Revista Eletrônica  
4301 Anima Terra, Faculdade de Tecnologia de Mogi das Cruzes – FATEC-MC. Mogi das  
4302 Cruzes-SP., n° 9, 2019, p.16-28.
- 4303 MALAGODI-BRAGA, K.S. **Estudo de agentes polinizadores em cultura de**  
4304 **morango (*Fragaria x ananassa* Duchesne – Rosaceae).** Tese de doutorado, 2002.
- 4305 MEYRELLES, B.G. **Polinização do tomate cereja por abelhas nativas em cultivo**  
4306 **protegido.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2013.
- 4307 MICHENER, C.D. The Meliponini. *In*: VIT P.; SILVIA, R.M.P.; ROUBIK, D. (eds)  
4308 **Pot honey: A legacy of stingless bees.** New York, USA: Springer, 2013. p. 3-18.
- 4309 MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; DA FONSECA, G.A.B.;  
4310 KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, 2001, p.  
4311 853-858.
- 4312 MORAES, M.C.M. **Uso de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae: Meliponini)**  
4313 **na polinização do tomate cereja cultivado em casa de vegetação.** Dissertação de  
4314 mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2014.
- 4315 MORAES-MOURA, M.C.; FRANTINE-SILVA, W.; GAGLIANONE, M.C.;  
4316 CAMPOS, L.A. The use of diferente stingless bee species to pollinate cherry tomatoes  
4317 under protected cultivation. **Sociobiology**, n.1, v. 68, 2021, p. 1-9.
- 4318 MORANDIN, L.A.; LAVERTY, T.M.; KEVAN, P.G. Effect of bumblebee  
4319 (Hymenoptera: Apidae) pollination intensity on the quality of greenhouse tomatoes.  
4320 **Journal of Economic Entomology**, n. 1, v. 94, 2001, p. 172–179.



- 4321 MORANDIN, L.A. *et al.* Effect of greenhouse polyethylene covering on activity level  
4322 and photo-response of bumble bees. **The Canadian Entomologist**. v. 134, 2002, p.  
4323 539-549.
- 4324 MORSE, A., *et al.* The impact of greenhouse tomato (Solanales: Solanaceae) floral  
4325 volatiles on bumblebee (Hymenoptera: Apidae) pollination. **Environmental**  
4326 **Entomology**, n. 4, v. 41, 2012, p. 855-864.
- 4327 NETO, A.V. *et al.* **Desafios e recomendações para o manejo e transporte de**  
4328 **polinizadores**. São Paulo: A.B.E.L.H.A, 2018.
- 4329 NUNES-SILVA P.; ROLDÃO Y.; SILVA C. I.; HRNCIR M.;  
4330 IMPERATRIZFONSECA V.L. Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient  
4331 pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. **Apidologie**, 2013.
- 4332 O CHARLO, H.C. DE.; SOUZA, S.C.; CASTOLDI, R.; BRAZ, L.T. Desempenho e  
4333 qualidade de frutos de tomateiro em cultivo protegido com diferentes números de  
4334 hastes. **Horticultura Brasileira**, v. 27, 2009, p. 144-149.
- 4335 PEDRO, S.R.M. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae).  
4336 **Sociobiology**, n. 4, v. 61, 2014, p. 348-354.
- 4337 RECH, A.R., *et al.* **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Revisora editorial Ceres  
4338 Belchior, 2014.
- 4339 RICKETTS, T. H.; DAILY, G. C.; EHRLICH, P. R.; MICHENER, C. D. Economic value  
4340 of tropical forest to coffee production. **PNAS**, n. 34, v. 101, 2004, p. 12579-12582.
- 4341 ROSE-DENADAI, C.A. *et al.* Buzz-pollination in Neotropical bees: genus-dependent  
4342 frequencies and lack of optimal frequency for pollen release. **Insect Science**, v. 27,  
4343 2020, p. 133-142.
- 4344 ROUBIK, D.W. **The pollination of cultivated plants – A compendium for**  
4345 **practitioners**. Food and agriculture Organization of The United Nations, Rome, v. 2,  
4346 2018.
- 4347 SILVA-NETO, C.M. *et al.* The stingless bee mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*  
4348 Lepeletier) increases the quality of greenhouse tomatoes. **Journal of Apicultural**  
4349 **Research**, 2018, v. 58, p. 1-6.
- 4350 SILVA, J.O. **Catálogo de insumos naturais e biológicos para uso na agropecuária:**  
4351 **representantes e vendas no Distrito Federal e entorno**. Emater-DF. 2016.
- 4352 SILVA, M.A.; OLIVEIRA, F.A.; HRNCIR, M. Efeito de diferentes tratamentos de  
4353 polinização em berinjela em casa de vegetação. **Revista Verde de Agroecologia e**  
4354 **Desenvolvimento Sustentável**, n. 1, v. 11, 2016, p. 30-36.
- 4355 SILVA, F.D.S. (2019). **Desafios para o uso sustentável da polinização na**  
4356 **agricultura: ameaças da intensificação agrícola nos benefícios socioeconômicos da**  
4357 **polinização**. Tese de doutorado, 2019.

- 4358 SILVA-NETO, C.M. **Biologia reprodutiva do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.)**  
4359 **e influência das abelhas na produção dos frutos.** Dissertação de mestrado, 2013.
- 4360 Slaa, E.J., *et al.* Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives.  
4361 **Apidologie**, v. 37, 2006, p. 293-315.
- 4362 SMAGGHE, G., *et al.* (2012). Multitrophic Interactions: The Entomovector  
4363 Technology. *In*: Smagghe, G & Diaz, Isabel (Eds.), **Arthropod-Plant Interactions –**  
4364 **Novel Insights and Approaches for IPM.** Springer, New York. 2012. p. 238.
- 4365 SOWMYA, K.S.; SRIKANTH, C.D.; SUDHA, M. Bumble bees as crop pollinators.  
4366 **Global Journal of Advanced Research**, v. 2, 2015, p. 1-4.
- 4367 STRANGE, J. P. *Bombus huntii*, *Bombus impatiens*, and *Bombus vosnesenskii*  
4368 (Hymenoptera: Apidae) pollinate greenhouse-grown tomatoes in Western North  
4369 America. **J. Econ. Entomol.** v. 108, 2015, p. 873–879.
- 4370 VALARINI, P.J. *et al.* **Diagnóstico da agricultura orgânica no Brasil.** Empresa  
4371 Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2005, p. 1-23.
- 4372 VICENTE, M.H.; ZSÖGÖN, A.; S\_A, A.F.L.; RIBEIRO, R.V.; PERES, L.E. Semi-  
4373 determinate growth habit adjusts the vegetative-to-reproductive balance and increases  
4374 productivity and water-use efficiency in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Journal of**  
4375 **Plant Physiology**, v. 177, 2015, p. 11–19.
- 4376 VAISSIÈRE B. E.; FREITAS B. M.; GEMMILL-HERREN B. **Protocol to detect and**  
4377 **assess pollination deficits in crops: a handbook for its use.** Roma, FAO, 2011, p. 81.
- 4378 VELIMIROV, A.; BERGAMO, P.; LÜCK, L.; BRANDT, K. **Sabor, Frescura, e**  
4379 **Nutrientes. Informação aos Retalhistas visando o Controle da Qualidade e**  
4380 **Segurança Alimentar em Cadeias de Produção Biológica,** 2005.  
4381
- 4382 VELTHUIS, H. H.; A. VAN DOORN. A century of advances in bumblebee  
4383 domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for  
4384 pollination. **Apidologie**, v. 37, 2006, p. 421–451.  
4385
- 4386 ZENEON, O.; PASCUET. N.S.; TIGLEA, P. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo).  
4387 **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon,  
4388 Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 1020  
4389
- 4390 WESTERKAMP, C.; GOTTSBERGER, G. Diversity pays in crop pollination. **Crop**  
4391 **Science**, n. 5, v. 40, 2000, p. 1209-1222.
- 4392 WINFREE, R.; GROSS, B. J.; KREMEN, C. Valuing pollination services to agriculture.  
4393 **Ecological Economics**, v. 71, 2011, p. 80-88.  
4394
- 4395

## 4396 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

4397

4398 A demanda pelo aumento da produção agrícola com sustentabilidade ambiental  
4399 tem resultado na expansão de áreas de cultivo em sistemas orgânicos de produção em  
4400 estufas agrícolas. Tal incremento da produção vem acompanhado da adoção de  
4401 tecnologias por parte dos produtores, como o uso da polinização assistida, que consiste  
4402 na inserção de colônias de abelhas no interior das estufas para suprir o déficit de  
4403 polinização nestes ambientes. Em particular no Brasil, dado a sua elevada biodiversidade,  
4404 existe um grande potencial no uso de abelhas nativas, já conhecidas como importantes  
4405 polinizadores de diversas culturas (BPBES, 2019). Em particular, o uso de abelhas nativas  
4406 sem ferrão em estufas parece ser uma alternativa bastante promissora para polinização  
4407 em estufas dado as características próprias deste grupo, como o hábito de vida social,  
4408 colônias perenes populosas, ausência de ferrão funcional, e diversidade de  
4409 comportamentos (NETO *et al.*, 2018). Contudo, condições ambientais comuns nestes  
4410 sistemas, como aumento da temperatura e redução da luminosidade podem ser limitantes  
4411 para o uso e manejo destes animais, impedindo o incremento da produção via serviço de  
4412 polinização (DAG, 2008; KENDALL *et al.*, 2021).

4413 Aliado a isto, a falta de conhecimento sobre a biologia, comportamento e manejo  
4414 destes animais também se torna um entrave para a utilização adequada destes em escala  
4415 comercial em sistemas protegidos. Os resultados deste trabalho mostraram que os fatores  
4416 ambientais avaliados (temperatura e luminosidade) foram importantes para determinar o  
4417 comportamento de fototáxia, fundamental para a orientação e navegação das abelhas  
4418 durante o voo. Contudo, as três espécies de abelhas sem ferrão avaliadas foram afetadas  
4419 de forma diferenciada por estas condições, seja na aclimatação, ou na atividade de  
4420 forrageamento. Tais resultados provavelmente refletem características próprias da  
4421 história de vida e aspectos ecológicos de cada espécie. Mais estudos envolvendo espécies  
4422 abelhas sem ferrão com diferentes características morfológicas e comportamentais são  
4423 necessários, a fim de melhor avaliar como tais condições ambientais podem afetar o uso  
4424 e eficiência destes animais como polinizadores em sistemas protegidos.

4425 Além dos fatores ambientais já mencionados, fatores ligados a interação planta-  
4426 polinizador também podem interferir na eficiência dos serviços de polinização.  
4427 Atualmente, a maior parte das culturas utilizadas no campo são resultado de programas  
4428 de cruzamentos visando encontrar plantas mais resistentes a doenças, com maior  
4429 potencial de produtividade e qualidade dos frutos e sementes produzidos (KLATT *et al.*,

4430 2013). Contudo, tais cultivares podem diferir no grau de atratividade e dependência do  
4431 serviço de polinização por animais (WRIGHT *et al.*, 2002; MORSE *et al.*, 2012;  
4432 CEUPPENS *et al.*, 2015; FERNANDES *et al.*, 2019). Nosso estudo mostrou que para  
4433 duas cultivares de tomateiro amplamente comercializadas em estufas, houve diferenças  
4434 de visitação por parte de forrageiras da espécie *Melipona quadrifasciata*. A maior  
4435 frequência de visitas a uma das cultivares provavelmente está associada a diferenças de  
4436 atributos florais, também identificadas em nosso estudo. O próximo passo é entender  
4437 melhor a relação entre atributos florais destas cultivares do tomateiro com a atratividade  
4438 e preferências observadas pela abelha avaliada. Isto poderá ser feito por meio de  
4439 experimentos que estabeleçam uma relação de causa-efeito, visando confirmar as  
4440 hipóteses levantadas em nosso estudo.

4441       Sistemas de produção em estufas agrícolas totalmente fechadas no teto e laterais  
4442 impedem o serviço de polinização promovido pelos animais que vivem em áreas naturais  
4443 no entorno dos campos agrícolas. Em casos de culturas que dependem deste serviço,  
4444 produtores se utilizam de métodos de polinização assistida artificiais, como uso de spray  
4445 de pólen, vibradores, sopradores, ou ainda, a polinização manual feita por pessoas.  
4446 Contudo, tais métodos nem sempre são efetivos como a polinização por abelhas  
4447 (COOLEY; VALLEJO-MARIN, 2021), além de poder elevar os custos de produção,  
4448 diminuindo assim, a lucratividade para o produtor (WESTERKAMP; GOTTSBERGER,  
4449 2000). Nosso estudo partiu de uma demanda do mercado de produção orgânica em  
4450 sistemas protegidos. De forma geral, sob condições ambientais favoráveis em esufa,  
4451 nossos resultados mostraram que o uso da polinização por abelhas ou esta aliada ao uso  
4452 do soprador contribuiu para o aumento da qualidade dos frutos, da produtividade, e do  
4453 valor econômico na cultura do tomateiro. Contudo, este efeito variou de acordo com a  
4454 cultivar avaliada e o período do ano em que foi conduzido o estudo.

4455       Questões importantes levantadas com base nos resultados deste estudo poderão  
4456 ser respondidas em trabalhos futuros. É importante entender, por exemplo, como questões  
4457 ligadas ao comportamento de forrageio dos polinizadores (*e.g.* forma de manipulação da  
4458 flor, duração das visitas), ou ainda aspectos ligados a abundância e riqueza de espécies  
4459 utilizadas na polinização assistida podem afetar a eficiência de polinização das culturas,  
4460 e suas implicações sobre a produção e valor econômico associado. Em contrapartida, o  
4461 maior conhecimento sobre aspectos da biologia floral e grau de dependência da  
4462 polinização em diferentes cultivares de uma dada espécie agrícola também é essencial  
4463 para garantir a efetividade deste serviço. Espera-se ainda que este estudo possa servir de

4464 base para o aprimoramento das técnicas de manejo envolvendo a suplementação dos  
4465 serviços de polinização por abelhas sem ferrão, com ênfase em sistemas protegidos. Tais  
4466 práticas, uma vez aplicadas, também poderão melhorar a produtividade de cultivos nestes  
4467 sistemas, podendo gerar uma renda extra não só para os produtores rurais, mas também  
4468 para os meliponicultores.

4469 Por fim, são necessários novos estudos que apliquem métodos econômicos que  
4470 incorporem o serviço de polinização como bioinsumo, inserindo-o dentro do sistema de  
4471 produção como processo e não apenas como produto, em nível local. Uma vez validados,  
4472 tais métodos podem ser bastante úteis na tomada de decisão do produtor, uma vez que  
4473 fornecem informações dos custos e benefícios associados ao uso deste serviço no nível  
4474 da propriedade. Além da aplicação em nível local, estes dados poderão ter implicações  
4475 em níveis mais elevados (regional, nacional, e global), contribuindo assim para a geração  
4476 de políticas públicas voltadas para a conservação dos provedores do serviço de  
4477 polinização e o fomento de uma agricultura mais sustentável.

4478

4479 **7. ANEXOS**

4480

4481 ANEXO 1

4482 **Protocolo para contagem de grãos de pólen usando câmara de Neubauer**

4483 1. Colocar a lamínula sobre a área de marcada na câmara de contagem. Usar lamínulas especiais  
4484 que fornecem a profundidade correta da câmara de contagem. Não usar lamínulas comuns.

4485

4486 2. Adicionar um número de anteras conhecido em 1mL (1000 µl) de álcool 70% em um tubo de  
4487 ensaio.

4488

4489 3. Homogeneizar bem o conteúdo em vórtex por 10 segundos e retirar uma alíquota de 0,5 ml  
4490 com a pipeta.

4491

4492 4. Encostando a ponta da pipeta na borda da lamínula ou nas canaletas, preencher  
4493 cuidadosamente a câmara de contagem. O líquido deve preencher todos os canais de cada  
4494 lado da área de contagem configurado na forma de um H (Fig. 1).

4495

4496 5. Deixar os grãos sedimentarem por 2 min.

4497

4498 6. Focalizar a área demarcada da câmara de contagem com a objetiva de menor aumento (neste  
4499 caso, 10x) (Fig.2). Nas áreas 1, 2, 3 e 4, o volume com a lamínula colocada corresponde a  
4500 0,1 mm<sup>3</sup>.

4501

4502 7. Contar os grãos nas 4 áreas de um lado da câmara de contagem, seguindo o esquema da Fig.  
4503 2 e 3. Caso haja grãos sobre as margens dos quadrantes, contar apenas as que estiverem nas  
4504 margens esquerda e superior.

4505

4506 9. Para obter o número de grãos/ml, multiplicar/corrigir o valor obtido por 10.000, pois:

4507

$$1 \text{ ml} = 1 \text{ cc}$$

4508

$$1 \text{ cc} = 10 \times 10 \times 10 \text{ mm} = 1.000 \text{ mm}^3$$

4509

Na câmara de Neubauer obtemos o número de celular por 0,1 mm<sup>3</sup>, então devemos  
4510 multiplicar por 10, portanto  $10 \times 1.000 = 10.000$

4511

4512

10. Assim temos:

4513

4514

4515

$$N^{\circ} \frac{\text{grãos}}{\text{ml}} = \frac{n^{\circ} \text{ total de grãos}}{n^{\circ} \text{ de quadrantes contados}} \times 10.000$$

4516

4517 11. Para obter o n° de grãos de pólen por antera, basta multiplicar o valor acima pelo volume da  
4518 suspensão original (neste caso, 1mL) e dividir pelo número de anteras da flor amostrada  
4519 adicionadas ao volume original (em princípio, apenas 1).

4520

4521 12. Caso seja utilizada apenas uma antera no volume inicial, pode-se obter o n° de grãos de  
4522 pólen por flor, multiplicando o n° de grãos de pólen por antera pelo n° de anteras da flor  
4523 amostrada.

4524

4525 13. Após a contagem, limpar a lâmina e lamínula com álcool e secar com papel.

4526

4527

4528

4529

4530

4531

4532

4533

4534

4535

4536

4537

4538

4539

4540

4541

4542

4543

4544

4545

4546

4547

4548

4549



Figura 3 - Inserção da solução na câmara de Neubauer.

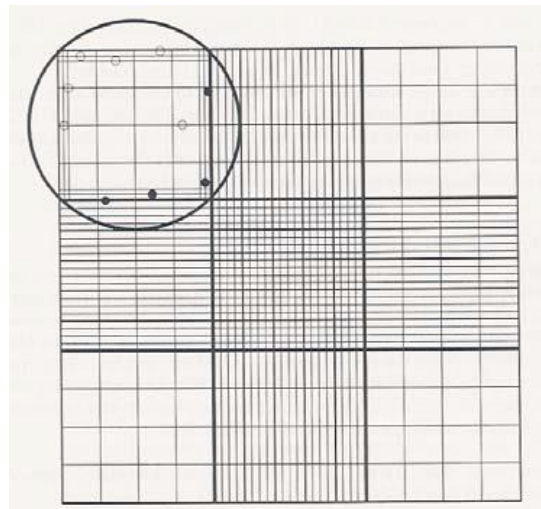


Figura 4 - Quadrante indicado por círculo onde será feita a contagem na câmara de Neubauer

4550

4551

4552

4553

4554

4555

4556

4557

4558

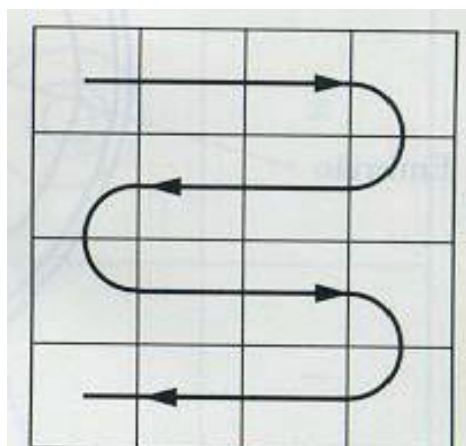


Figura 5 - Sentido da contagem de grãos de pólen em um quadrante.

4559

4560

4561

4562

4563 ANEXO 2

4564 **Levantamento de dados de custo, produção e comercialização**

4565 Fazenda:

4566 Data:

4567 Tipo do Tomate: ( ) Italiano ( ) cereja

4568

4569 **Coefficientes Técnicos (ESTUFA)**4570 Área da Estufa (m<sup>2</sup>) –

4571 Nº de Estufas na propriedade -

4572 Produtividade (kg por estufa) –

4573 Percentual de perda no processamento (% médio) -

4574 Ciclo da cultura (meses) – em quantos meses se dá o ciclo de produção?

4575

4576 **Mão-de-obra**

4577 1. Quais são as atividades e os custos que envolve a mão-de-obra referente à uma estufa?

| Atividade                        | Nº de empregados | Horas por dia | Nº de dias | Preço do trabalho por hora* | valor total |
|----------------------------------|------------------|---------------|------------|-----------------------------|-------------|
| Transplante de mudas (se couber) |                  |               |            |                             |             |
| Tutoramento/desbrota             |                  |               |            |                             |             |
| Pulverização                     |                  |               |            |                             |             |
| Colheita                         |                  |               |            |                             |             |
| Limpeza, seleção/embalagem       |                  |               |            |                             |             |
| Outras atividades...             |                  |               |            |                             |             |
| Manutenção das colmeias          |                  |               |            |                             |             |
| Manutenção do soprador           |                  |               |            |                             |             |

4578 Fonte: Adaptado de Martines *et al.* (2019).



4579 \*Se for um salário mensal fixo, anotar o valor do salário na coluna e marcar com ‘\*’.

4580

4581

4582

4583 2. Quais insumos e materiais são aplicados no processo de produção e comercialização referentes à  
4584 uma estufa (E)?

| <b>Insumos, Materiais</b>                   | <b>Quantidade do insumo</b> | <b>Unidade de medida Do insumo</b> | <b>Unidade de medida Do preço</b> |
|---|-----------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Mudas enxertadas                            |                             |                                    |                                   |
| nitrato de potássio                         |                             |                                    |                                   |
| nitrato de cálcio                           |                             |                                    |                                   |
| defensivos                                  |                             |                                    |                                   |
| Xentari                                     |                             |                                    |                                   |
| Supera                                      |                             |                                    |                                   |
| Azamax                                      |                             |                                    |                                   |
| Dipel                                       |                             |                                    |                                   |
| Kumulus                                     |                             |                                    |                                   |
| sulfato de MG                               |                             |                                    |                                   |
| sulfato de Mono Potássio                    |                             |                                    |                                   |
| Sulfato de Potássio                         |                             |                                    |                                   |
| Coquetel de Micro                           |                             |                                    |                                   |
| Outros insumos e materiais...               |                             |                                    |                                   |
| Materiais para manutenção do soprador       |                             |                                    |                                   |
| Materiais para manutenção das colmeias      |                             |                                    |                                   |
| Mudas compradas                             |                             |                                    |                                   |
| Torta de mamona                             |                             |                                    |                                   |
| Composto (gesso, capeferti, pó de serragem) |                             |                                    |                                   |
| Carvão                                      |                             |                                    |                                   |

4585 Fonte: Adaptado de Martines *et al.* (2019).

4586

4587

4588 3. Qual o preço do tomate em relação aos diferentes níveis de qualidade encontrados no mercado  
4589 atualmente? Em relação ao histórico da fazenda, qual o percentual da produção que geralmente  
4590 resultada em cada categoria de qualidade encontrada no mercado?

| <b>Categoria</b> | <b>Unidade</b> | <b>Valor</b> |
|------------------|----------------|--------------|
| preço mínimo     |                |              |
| preço médio      |                |              |
| preço máximo     |                |              |
| qualidade mínima |                |              |
| qualidade média  |                |              |
| qualidade máxima |                |              |

4591 Fonte: Adaptado de Martines *et al.* (2019).

4592

4593

4594 4. Quais foram os valores dos Investimentos realizados para construir e operacionalizar uma  
4595 Estufa? Aqui podem ser valores mais gerais.

| <b>Categoria</b>                                   | <b>Quantidade do item</b> | <b>Unidade de medida do item</b> | <b>Valor</b> |
|--|---------------------------|----------------------------------|--------------|
| Equipamento de Irrigação                           |                           |                                  |              |
| Pulverizador Manual 20L                            |                           |                                  |              |
| caixas para colheira                               |                           |                                  |              |
| Equipamentos e Ferramentas                         |                           |                                  |              |
| Estrutura da estufa (valor total)*                 |                           |                                  |              |
| Custo de aquisição do Soprador                     |                           |                                  |              |
| Tipo de cobertura (se for o caso)                  |                           |                                  |              |
| Gasto de aquisição e instalação das colmeias       |                           |                                  |              |
| <u>Especificação dos equipamentos de irrigação</u> |                           |                                  |              |

4596 Fonte: Adaptado de Martines *et al.* (2019).

4597

4598 \*valor total gasto para construir uma estufa.

4599

4600

4601 5. Quais os valores das Despesas Administrativas e Comerciais referente ao ciclo de produção da  
4602 Fazenda? Podem ser valores globais encontrados na Demonstração do Resultado do Exercício  
4603 (Anual ou por Ciclo).

| <b>Despesas Administrativas</b>       | <b>Valor máximo registrado nos últimos 2 anos</b> | <b>Valor mínimo registrado nos últimos 2 anos</b> | <b>Valor médio registrado nos últimos 2 anos</b> |
|---------------------------------------|---|---|--|
| Salários, pró-labore e encargos       |   |   |  |
| Depreciação de ativos administrativos |   |   |  |
| Serviços de terceiros                 |   |   |  |

Material de escritório

Outros gastos  
administrativos  
Outras despesas adm...

Despesas Comerciais

Frete e Distribuição

Embalagem de Transporte

Depreciação de Ativos  
Comerciais  
Marketing

Outras despesas  
comerciais  
Consultoria

Manutenção e reparos

---

4604 Fonte: Adaptado de Martines *et al.* (2019).

4605 Referência:

4606 MARTINEZ, G.A.; ALMEIDA, T.B. de; MACHRY, M. **Viabilidade econômica e financeira da**  
4607 **produção de tomate italiano em Guararema – SP.** Revista Eletrônica Anima Terra, Faculdade de  
4608 Tecnologia de Mogi das Cruzes – FATEC-MC. Mogi das Cruzes-SP., nº 9, 2019, p.16-28.