

Avaliação sazonal de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera:
Meliponini) na polinização de tomateiro (*Solanum lycopersicum*)
cultivado em estufa no centro-oeste paulista

PEDRO AUGUSTO LACERDA BARBOSA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica).
Botânica, Área de concentração
Biodiversidade.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

AVALIAÇÃO SAZONAL DE *MELIPONA QUADRIFASCIATA*
(HYMENOPTERA: MELIPONINI) NA POLINIZAÇÃO DO
TOMATEIRO (*SOLANUM LYCOPERSICUM*) CULTIVADO
EM ESTUFA NO CENTRO-OESTE PAULISTA

PEDRO AUGUSTO LACERDA BARBOSA

FELIPE WANDERLEY DE AMORIM
Orientador

CRISTIANO MENEZES

CARMEN SILVIA SOARES PIRES
Coorientadores

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica). Botânica, Área de concentração Biodiversidade.

BOTUCATU - SP
2023

B238a Barbosa, Pedro Augusto Lacerda
Avaliação sazonal de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Meliponini) na polinização de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) cultivado em estufa no centro-oeste paulista / Pedro Augusto Lacerda Barbosa. -- , 2023
38 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara,
Orientador: Felipe Wanderley de Amorim
Coorientadora: Carmen Silvia Soares Pires

1. Polinização. 2. Agricultura. 3. Abelha sem ferrão. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE PEDRO AUGUSTO LACERDA BARBOSA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BOTÂNICA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 09 dias do mês de novembro do ano de 2023, às 14:00 horas, no(a) Sala de Pós-Graduação da Botânica, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de PEDRO AUGUSTO LACERDA BARBOSA, intitulada **Avaliação Sazonal de Melipona quadrifasciata (Hymenoptera:Meliponini) na polinização de tomateiro (Solanum lycopersicum) cultivado em estufa no centro-oeste paulista..** A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. FELIPE WANDERLEY DE AMORIM (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP, Prof. Dr. BRENO MAGALHÃES FREITAS (Participação Virtual) do(a) Departamento de Zootecnia Ciências Agrárias / Universidade Federal do Ceará, Profa. Dra. FERNANDA HELENA NOGUEIRA- FERREIRA (Participação Virtual) do(a) Instituto de Biologia / Universidade Federal de Uberlândia. Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: APROVADO . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. FELIPE WANDERLEY DE AMORIM

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que participaram dessa jornada pela graduação e pós-graduação em Ciências Biológicas até o momento presente.

Ao Felipe Amorim, pela orientação, amizade e oportunidade proporcionadas desde meu ingresso ao LEPI (Laboratório de Ecologia da Polinização e Interações);

Aos meus coorientadores Carmen Pires e Cristiano Menezes, pelas orientações e contribuições para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao Davi Ramos, por toda atenção e suporte dado para o desenvolvimento deste trabalho;

À Fazenda Rio Bonito Orgânicos, em especial ao Alex e ao Edmar, por todo suporte para a realização deste trabalho;

Ao Gabriel, Camila, Natascha e Lurian, por toda amizade e companheirismo ao longo desta jornada. Além da enorme ajuda no campo e laboratório para o desenvolvimento deste trabalho;

Aos meus colegas do LEPI, Leandro, Caio, Maju, Diego, Priscila, Giovana, Luana pelo acolhimento, companheirismo e auxílio nesta caminhada da vida acadêmica;

A todos os amigos que fiz durante esta jornada em Botucatu: Juan, Igor, João, Renata, Jennyfer, Érika e Ana Julia, os quais levarei para a vida;

À minha amiga Larissa, por todo companheirismo, e que mesmo distante sempre esteve me apoiando;

À minha família, por todo amor e carinho e por estarem sempre me apoiado;

Aos servidores da Unesp, por todo auxílio e serviços prestados;

À CAPES, pela bolsa concedida (processo número 88887.604614/2021-00).

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAL E MÉTODO	14
RESULTADOS	20
DISCUSSÃO.....	26
CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

RESUMO

A interação entre plantas e polinizadores é vital para a biodiversidade e a segurança alimentar, beneficiando cerca de 35% dos cultivos agrícolas. O cultivo em estufas, apesar de proteger contra intempéries e pragas, impede o acesso dos polinizadores, afetando culturas como o tomateiro, que dependem de polinização por vibração. A abelha *Melipona quadrifasciata*, pela disponibilidade, manejo conhecido e a capacidade de vibrar, é considerada para uso em estufas, mas há desafios sobre sua aclimação, especialmente em regiões com estações bem definidas. Neste estudo investigou-se o comportamento dessa espécie de abelha e seu papel na polinização de tomateiros cultivados em estufa, considerando a influência da sazonalidade climática nesse processo. O estudo avaliou a saúde das colônias em estufas, acompanhando o peso das caixas para medir o consumo de recursos, correlacionando fatores abióticos, como a temperatura, com a atividade das abelhas. A introdução inicial das colônias nas estufas mostrou voos desorientados e alta mortalidade, melhorando ao longo do tempo com a aclimação das colônias. Notou-se uma relação entre a atividade das abelhas e a temperatura, uma influência direta que varia conforme a estação do ano. A atividade das abelhas foi mais intensa nas estações quentes, com poucas visitas às flores no outono, possivelmente indicando um comportamento de diapausa. Experimentos controlados de polinização ao longo do ano indicaram que a polinização por abelhas contribuiu significativamente para um aumento de até 18% no peso dos tomates em comparação com a polinização manual. Esses resultados revelaram a eficácia da *M. quadrifasciata* para a melhoria da qualidade dos tomates produzidos em estufa, além de aspectos cruciais para entender a biologia da espécie que auxiliarão o desenvolvimento de protocolos para sua utilização em larga escala. Assim, destaca-se a importância do uso da fauna apícola nativa na agricultura sustentável, sendo essencial para que se alcance os objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, exigindo investimentos e estudos tanto em políticas nacionais quanto internacionais para o aproveitamento desse potencial.

ABSTRACT

The interaction between plants and pollinators is crucial for biodiversity and food security, benefiting approximately 35% of agricultural crops. Greenhouse cultivation, despite providing protection against weather and pests, hinders access for pollinators, affecting crops, such as tomatoes, that rely on vibration pollination. The *Melipona quadrifasciata* bee, due to its availability, known management, and vibration capabilities, is considered for use in greenhouses. However, there are challenges regarding its acclimatization, especially in regions with well-defined seasons. This study investigated the behavior of this bee species and its role in the pollination of tomatoes grown in greenhouses, considering the influence of climatic seasonality in the process. Colonies health were assessed in greenhouses by monitoring box weights to measure resource consumption, correlating abiotic factors such as temperature with bee activity. The initial introduction of colonies into greenhouses showed disoriented flights and high mortality, improving over time with acclimatization. A relationship between bee activity and temperature was observed, with a direct influence varying with the season. Bee activity was more intense in the warmer seasons, with fewer flower visits in the fall, possibly indicating diapause behavior. Controlled pollination experiments throughout the year indicated that bee pollination significantly contributed to an increase of up to 18% in tomato weight compared to manual pollination. These results revealed the effectiveness of *M. quadrifasciata* in enhancing the quality of tomatoes produced in greenhouses, along with crucial insights into understanding the species' biology that will aid in developing protocols for its widespread use. Thus, the importance of using native bee fauna in sustainable agriculture is emphasized, which is essential for achieving the UN Sustainable Development Goals. This requires investments and studies in both national and international policies to harness this potential.

INTRODUÇÃO

As interações entre as plantas e os seus polinizadores são essenciais para a manutenção da biodiversidade, bem como para a segurança agrícola e alimentar, uma vez que 85% das angiospermas dependem de polinizadores para sua reprodução (Ollerton *et al.*, 2011). O serviço ecossistêmico dos polinizadores é de extrema importância para a sociedade, haja vista que 70% das culturas agrícolas mundiais possuem um incremento na produção por meio da polinização biótica (Klein *et al.*, 2007). Assim, estima-se que esse serviço ecossistêmico tenha um valor entre US\$ 253 e US\$ 557 bilhões para a produção agrícola anualmente (IPBES, 2016). Além da importância econômica, há a importância nutricional, visto que os cultivos dependentes de polinizadores também são fontes de micronutrientes, essenciais à saúde humana, como vitaminas e ácido fólico (Chaplin-Kramer *et al.*, 2014; Ellis *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2015).

Somente no Brasil, os serviços de polinização são avaliados em cerca de US\$ 12 bilhões anualmente (Giannini *et al.*, 2015). Quase um terço dos cultivos brasileiros são essencialmente ou altamente dependentes de polinizadores (Giannini *et al.*, 2015). Mesmo em culturas nas quais a polinização apresenta um incremento modesto de produção, existe um aumento econômico significativo (Klein *et al.*, 2007). Por exemplo, a soja, que possui uma grande importância na balança comercial brasileira (CONAB, 2021a), demonstrou um aumento em torno de 6,8% da produção com a presença de polinizadores bióticos, o que implica em um aumento de US\$ 59,7 / ha (Milfont *et al.*, 2013). O mesmo pôde ser observado para o café, outro produto de importância significativa na balança comercial brasileira (CONAB, 2021b), que apresentou um incremento de 14,6% na produção em plantios próximos a fragmentos florestais, que oferecem condições favoráveis para as populações de abelhas nativas (De Marco & Coelho, 2004).

Devido à grande importância do serviço ecossistêmico fornecido pelos polinizadores, ações políticas no âmbito ambiental são essenciais para a preservação desses polinizadores. O uso de agrotóxicos (Pinheiro & Freitas, 2010; Pires *et al.*, 2016), a supressão de áreas naturais (Goulson *et al.*, 2008; Winfree *et al.*, 2009), bem como os métodos de cultivo convencionais (Foley *et al.*, 2011; Dicks *et al.*, 2016) acarretam diminuição das populações de polinizadores, além das várias consequências

ecológicas e ambientais da perda de espécies de animais polinizadores (Burkle *et al.*, 2013; Ollerton *et al.*, 2014). Na agricultura tais perdas podem causar um déficit significativo na polinização de culturas que dependem completamente ou parcialmente do serviço de polinizadores, que além de limitar a produtividade de frutos e fibras, também compromete o rendimento econômico (Vaissière *et al.*, 2011).

Um sistema de cultivo que vem sendo adotado em vários países é o cultivo em estufas, as quais permitem um maior controle das ações climáticas e protegem a produção contra ação das chuvas intensas, geadas ou granizos, além de também reduzirem a ação de agentes bióticos, como pragas e doenças (Chang *et al.*, 2013; Hanafi & Rapisarda, 2017). No Brasil, esta prática passou a ter uma maior aplicação a partir da década de 90 (Grande *et al.*, 2003), e hoje é um dos países que mais faz uso de sistemas protegidos na América do Sul, com o cultivo de diversas espécies, como pimentão, pepino, alface e tomate (Silva *et al.*, 2014). Porém, este sistema impossibilita ou dificulta a entrada de polinizadores, sendo um problema para culturas que se beneficiam do serviço de polinização biótica. Isso leva aos produtores a contratarem funcionários para a realização da polinização manual, que são práticas mais caras e frequentemente menos eficientes, pois resultam em frutos de menor qualidade, comparado com aqueles derivados da polinização natural (Mann, 1953; Westerkamp & Gottsberger, 2000; Cruz *et al.*, 2005; Partap & Ya, 2012; Adhikari & Miyanaga, 2016).

Uma alternativa é a introdução de polinizadores, principalmente insetos, no interior das estufas para a realização da polinização biótica (Higo *et al.*, 2004; Adhikari & Miyanaga, 2016; Bomfim *et al.*, 2014). Contudo, a falta de conhecimento sobre o manejo e a aclimação da maioria dos insetos às estufas dificulta essa opção, e ainda é um fator limitante para a produtividade agrícola de espécies cultivadas nestes ambientes protegidos (Guerra-Sanz, 2008; Garibaldi *et al.*, 2017). Para a domesticação e utilização de insetos polinizadores em estufa é necessário o conhecimento detalhado de sua biologia, tal como, o uso de recursos alimentares, locais de abrigo e construção do ninho. Além disso, é preciso considerar suas tolerâncias em relação aos fatores abióticos como temperatura, umidade e luminosidade. Essas informações são essenciais para o desenvolvimento de técnicas de manejo adequadas para a manutenção de insetos polinizadores e do serviço de polinização por eles propiciados no interior das estufas (Velthuis & van Doorn, 2006).

A *Apis mellifera* tem sido a abelha mais amplamente utilizada em sistemas agrícolas em todo o mundo (Delaplane *et al.*, 2000; Klein *et al.*, 2007). De origem asiática (Dogantzis *et al.*, 2021) foi introduzida em grande parte do planeta, possuindo hoje distribuição global. A sua fácil adaptação em conjunto com tecnologias de manejo bem desenvolvidas, permitem que as colônias sejam transportadas entre culturas no período de floração das safras para a realização do serviço de polinização (Delaplane *et al.*, 2000). Contudo, a *A. mellifera* apresenta um comportamento generalista, não sendo a espécie mais eficaz para várias culturas, como a amêndoa (Bosch & Blas, 1994), urucum (Caro *et al.*, 2017), abóbora (Canto-Aguilar & Parra-Tabla, 2000), mirtilo (Javorek *et al.*, 2002), maracujá (Siqueira *et al.*, 2009) e até mesmo o café (Klein *et al.*, 2003). Em culturas com espécies que possuem anteras poricidas, como a berinjela, pimenta, tomate, dentre outras da família Solanaceae, por exemplo, a *A. mellifera* não é tida como o polinizador mais adequado, pois não possui o comportamento de vibração (King & Buchmann, 2003; Gemmill-Herren & Ochieng, 2008; Nunes-Silva *et al.*, 2013). Contudo, essa espécie ainda apresenta uma contribuição na polinização de espécies de anteras poricidas, como o tomate, através do comportamento de *licking* (Bartelli *et al.*, 2021). Todavia, em cultivos realizados em ambientes protegidos, a *A. mellifera* não são recomendadas, devido ao seu comportamento altamente defensivo. Tal comportamento se acentua na região Neotropical, onde há o predomínio da variedade africanizada da *A. mellifera* (Winston, 1992), que pode acarretar acidentes graves com os trabalhadores.

O tomate, *Solanum lycopersicum*, é um cultivo que tem sido cada vez mais adotado no modo de sistemas protegidos sob estufas. O cultivo de tomate em estufa permite safras ao longo de todo o ano, protege as plantas de ações climáticas e diminui o uso de agrotóxicos (Costa & Heuvelink, 2007; Reisser Junior, 2015). As flores do tomate são amarelas, pentâmeras, e possuem anteras poricidas, característica comum do gênero (Peralta *et al.*, 2008). Para que o pólen seja removido deste tipo de antera, e consequentemente, para que haja a polinização, é necessária a vibração das flores (de Oliveira Campos *et al.*, 2014). Este mecanismo é conhecido como polinização por vibração, ou “*buzz-pollination*”. As espécies que apresentam anteras poricidas têm seu pólen removido mais eficientemente por abelhas capazes de vibrar (Vallejo-Marín, 2019). Esse tipo de polinização ocorre quando a abelha pousa na flor, segura a antera e contrai os músculos de voo torácicos, enquanto mantém as asas imóveis. A vibração

decorrente desse processo expõe o pólen das anteras sobre o corpo da abelha (King, 1993; King & Buchmann, 2003; Pritchard & Vallejo-Marín, 2020). Embora a produção de frutos no tomateiro possa ocorrer por autopolinização espontânea, a polinização realizada por meio de vibração manual das plantas (Higuti *et al.*, 2010), sopradores (Nahir *et al.*, 1984), ou mesmo “abelhas elétricas” (Pressman *et al.*, 1999), torna-se necessária em estufas, uma vez que sem intervenção a produção de frutos é bastante limitada, o que pode inviabilizar a produção de um ponto de vista econômico (Del Sarto *et al.*, 2005). Porém, a demanda de mão de obra e instrumentos para este serviço pode tornar a produção bastante custosa, e ainda assim, menos eficiente que aquela resultante do serviço de polinização realizado por abelhas. Uma alternativa mais viável seria a utilização de abelhas em estufa. Porém, ainda existem grandes dificuldades devido à falta de tecnologia de manejo e de protocolos bem estabelecidos para a maioria das espécies de abelhas nativas, com potencial para a utilização em cultivos em estufa.

Atualmente as espécies de abelhas predominantemente usadas em estufas de tomate no mundo são *Bombus impatiens* da América do Norte e *Bombus terrestris* da Eurásia. A produção comercial de colmeias destas espécies foi iniciada na década de 80, e hoje as técnicas de produção são bastante desenvolvidas (Velthuis & van Doorn, 2006). Diferentemente de *A. mellifera*, as abelhas do gênero *Bombus* apresentam o comportamento de vibração que é essencial para a produção do tomate. Sua utilização nesta cultura agrícola aumenta a produtividade e melhora a qualidade dos frutos produzidos (Hogendoorn *et al.*, 2006; Bergamini *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2014). No entanto, ambas as espécies não são encontradas naturalmente no Brasil e sua introdução é proibida por lei, pois poderia acarretar impactos ecológicos negativos para a fauna de abelhas nativas do país (Cooley & Vallejo-Marín, 2021). Dessa forma, uma alternativa seria a utilização de abelhas *Bombus* nativas da fauna brasileira, porém, é necessária adaptação da tecnologia e do manejo da comercialização das abelhas norte-americanas e euroasiáticas para as espécies sul-americanas. O hábito de reprodução das *Bombus* pode ser dividido entre as *pocket-makers*, no qual as larvas são alimentadas na célula de cria através de um bolsa alimentar, e as *pollen-storers* ou “acumuladoras de pólen”, no qual os ovos são botados sobre uma massa de pólen que servirá de alimento para a larva durante seu desenvolvimento, e a célula de cria é fechada (Sladen, 1912). As espécies sul-americanas desse gênero pertencem ao grupo das *pocket-makers*, que torna a reprodução em ambiente controlado mais complexa e exigente (Plath, 1923; Sakagami,

1976; Velthuis & van Doorn, 2006). Apesar das dificuldades, já é possível encontrar trabalhos avaliando o desempenho na agricultura de espécies nativas sul-americanas com produção comercial (Cavigliasso *et al.* 2020; Estravis-Barcala *et al.* 2021). No entanto, a utilização de outros grupos de abelhas também tem sido considerada.

Vários estudos têm sido realizados apostando na adaptação e eficácia de algumas espécies de abelhas nativas sem ferrão em cultivos protegidos (Dos Santos *et al.*, 2009; Meyrelles, 2013; Nunes-Silva *et al.*, 2013; Bartelli & Nogueira-Ferreira, 2014). Dentre as características que poderiam facilitar a aclimatação destas espécies às estufas estão a menor amplitude do voo, a ausência de um ferrão funcional, bem como o comportamento pouco defensivo de algumas espécies, o que diminuem as chances de acidentes com os trabalhadores em ambiente de estufa (Kakutani *et al.*, 1993; Araújo *et al.*, 2004).

A *Melipona quadrifasciata*, popularmente conhecida como mandaçaia, é uma das espécies de abelha nativa sem ferrão, que contém uma série de características que favorecem sua utilização no cultivo de tomates em estufas. Possui os aspectos biológicos bem conhecidos, facilidade na criação e manejo, disponibilidade em meliponários e a capacidade de vibrar (Fontes *et al.*, 2016). Embora haja estudos a respeito do seu uso em cultivos protegidos (Del Sarto *et al.*, 2005; Meyrelles, 2013; Bartelli & Nogueira-Ferreira, 2014) , ainda existem grandes lacunas e desafios técnicos a serem superados para a utilização desta espécie em ampla escala nos cultivos do Brasil. A *M. quadrifasciata* parece responder a uma temperatura ótima de forrageio entre 12 e 22°C (Maia-Silva *et al.*, 2014), porém, reduzem sua atividade significativamente em temperaturas superiores a 29°C (Hikawa & Miyanaga, 2009; Oliveira-Abreu *et al.*, 2014). Essa mudança comportamental é conhecida para abelhas sem ferrão, na qual temperaturas muito altas, acima de 30°C, como podem atingir as estufas, faz com que as abelhas diminuam a sua atividade de forrageio e induza o comportamento de ventilação no interior da colônia para abaixar a temperatura (Wille, 1976; Roubik, 2006; Meyrelles, 2013).

O Brasil é um país de dimensões continentais, abrangendo diferentes regiões climáticas, como as regiões mais ao norte com clima equatorial, mais quente e com baixa amplitude térmica ao longo do ano, e a regiões sul com clima subtropical, mais ameno e uma maior amplitude térmica (Alvares *et al.*, 2013). Esse gradiente climático pode ter impacto sobre a atividade e a eficácia das abelhas implementadas em estufa nas

diferentes regiões. Ainda não existem informações que possam subsidiar as atividades e ações dos produtores de tomates na maior parte do país, uma vez que a maior parte dos estudos sobre *M. quadrifasciata* está concentrada no Brasil Central (Del Sarto *et al.*, 2005; Meyrelles, 2013; Bartelli & Nogueira-Ferreira, 2014; Bartelli *et al.*, 2014), onde as temperaturas são mais elevadas ao longo de todo ano, com estações pouco definidas.

Como a *M. quadrifasciata* possui maior atividade durante temperaturas mais amenas, cultivos de tomate realizados nas regiões sul e sudeste, local de clima subtropical úmido (Kottek *et al.*, 2006), o qual possui outonos e invernos mais amenos, podem ser favorecidas pelo uso desta espécie de abelha ao longo do ano. Entretanto, estas regiões do Brasil ainda carecem de informações triviais sobre a biologia e comportamento da *M. quadrifasciata* em condições de estufa, que permitam o seu manejo e uso para a polinização em cultivos protegidos. Portanto, este trabalho teve como objetivos **1)** determinar a influência da sazonalidade climática sobre o comportamento de *M. quadrifasciata* em estufa; **2)** analisar se há sincronia entre o período de forrageamento de *M. quadrifasciata* e o período de receptividade estigmática do tomate; **3)** analisar se há um incremento na produção dos frutos em termos qualitativos.

MATERIAL E MÉTODO

Área de estudo e sistema de cultivo

O trabalho foi desenvolvido entre setembro de 2021 e agosto de 2022 em colaboração com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e com a parceria da Fazenda Rio Bonito Orgânicos (www.fazendariobonito.com; 23°05'32.5"S 48°44'41.8"W), a qual disponibilizou as casas de vegetação localizadas na zona rural do município de Itatinga – SP, e trata-se da maior produtora de tomates orgânicos do Brasil. A região na qual a fazenda está situada possui um clima classificado como temperado quente úmido (Cfa), pela classificação climática de Köppen (da Cunha & Martins, 2009).

Duas estufas foram utilizadas, as quais serão designadas como estufa A e estufa B, ambas com área de 3980 m² e altura de 5 m, cobertas com filme plástico difusor de luz com 150 micra de espessura, modelo SUNCOVER DIFF da marca GINEGAR[®], que permite 65% de transmitância da luz na faixa do UV. As laterais são totalmente

fechadas com tela plástica branca antiafídeo, malha 50 mesh (Fig. 1). O cultivo do tomate no interior da estufa é dividido em duas partes, equivalente à metade da área da estufa, no qual em cada parte são cultivadas diferentes cultivares simultaneamente ou o mesmo cultivar. Três cultivares de tomate foram estudados ao longo do ano: mini italiano (híbrido cereja, Tmzz406 ou Aiko, empresa Sakata), italiano (híbrido italiano ou saladete, Paipai, empresa Enza Zaden) e caqui (híbrido salada, Tronus, empresa Rijk Zwaan). Os três cultivares são de desenvolvimento indeterminado. Há uma rotação sazonal dos cultivos de acordo com a demanda do mercado. Portanto, o estudo foi desenvolvido conforme o protocolo de produção da fazenda, não sendo realizado qualquer alteração no cronograma de produção para a realização do estudo de campo. Os períodos e as características das estufas nos quais foram realizados os estudos estão demonstrados na Tabela 1. O número de plantas cultivadas e o de hastes do tomateiro por planta variam de acordo com a estação do ano e o cultivar, conforme demonstrado na Tabela 2.

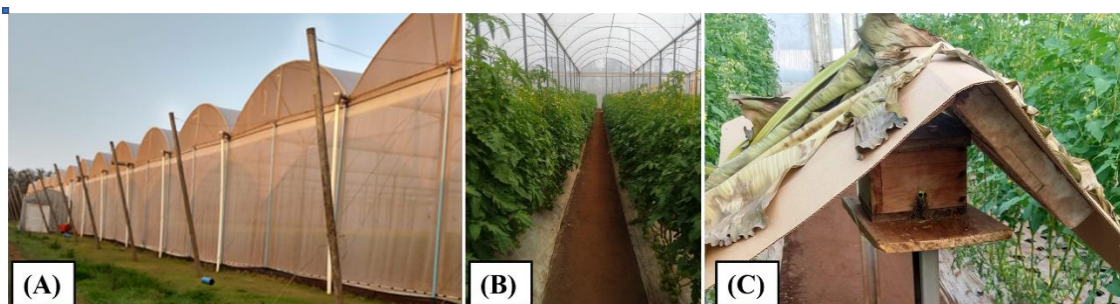


Figura 1: Estufa de cultivo de tomate. **A)** área externa da estufa; **B)** área interna da estufa e os canteiros com tomateiros; **C)** colmeia de mandaçaia instalada para o experimento.

Tabela 1. Período e condições em que foram realizados cada estudo.

Experimento	Estação	Estufa	Nº de caixas	Cultivar de tomates
1	Primavera 26/set. a 13/out. de 2021	A	6	Tomate mini italiano Tomate italiano
2	Verão 13/jan. a 13/fev. de 2022	A	10	Tomate caqui Tomate mini italiano
3	Outono 15/abr. a 04/mai. de 2022	A	10	Tomate mini italiano
4	Inverno 08/jul. a 03/ago. de 2022	B	9	Tomate mini italiano

Durante os primeiros experimentos, verificou-se que o número inicial de caixas poderia ser insuficiente para a densidade de flores presente na estufa. Conseqüentemente, a partir do segundo experimento, houve um aumento no número de caixas de seis para dez. No entanto, uma das caixas foi perdida devido a um ataque de formigas do gênero *Camponotus* antes da realização do último experimento, que foi conduzido apenas com nove caixas.

Tabela 2. Número de plantas por metro linear, hastes por plantas e o total de plantas para cada cultivar nos experimentos realizados.

Experimento	Estação	Variedade	Plantas/m	Hastes/planta	Nº total de plantas
1	Primavera	Mini italiano	3,6	2	≅ 4.330
		Italiano	2,3	2	≅ 3.400
2	Verão	Caqui	2,4	2	≅ 3.430
		Mini italiano	1,9	4	≅ 2.760
3	Outono	Mini italiano	3,7	2	≅ 5.430
4	Inverno	Mini italiano	3,9	2	≅ 11.150

Aclimação e atividade de forrageamento das operárias

Para avaliar as condições de saúde das colônias, realizou-se a pesagem das caixas no início e ao final de cada experimento. Uma diminuição no peso da caixa pode sinalizar um aumento no consumo de recursos (pólen e mel) o que, por sua vez, pode ser um ponto de atenção para a saúde da colônia, indicando o déficit de recursos. Por outro lado, uma manutenção ou aumento no peso das caixas seria um indicativo positivo, sugerindo que as condições no interior da estufa estariam suprindo as demandas de recursos (Czakońska *et al.*, 2023).

As colônias foram colocadas no interior das estufas cinco dias antes de iniciar as observações para se aclimatarem as condições da estufa. Para avaliar os fatores que abióticos que conhecidamente afetam a atividade de forrageio das abelhas (Polatto *et al.*, 2014; Abou-Shaara *et al.*, 2017), a cada 30 minutos foram coletados os dados da média de temperatura (°C) e umidade relativa (%) com o auxílio de três termo-higrômetros digitais (marca Oksn® - modelo DC103) distribuídos ao longo da estufa,

além da média da luminosidade (lx) medida com um luxímetro digital (marca Impac® – modelo IP-210LX) nos mesmos três pontos da estufa nos quais se localizavam os termo-higrômetros. Porém, como ao final do estudo a umidade ($p < 0,001$; $rho = -0,87$) e a luminosidade ($p < 0,001$; $r = 0,75$) se demonstraram altamente correlacionadas com a temperatura, as desconsideramos como variáveis preditoras para as análises.

Durante o experimento, as colônias foram supridas com solução de açúcar inicialmente com concentração de 70%, porém, ao longo do experimento observamos que devido as temperaturas elevadas no interior da estufa, havia uma rápida cristalização do açúcar na superfície que limitava o acesso das abelhas à solução. Dessa forma, reduzimos a concentração para 50%. Os alimentadores foram pintados com tinta fluorescente e espalhados pela casa de vegetação, e a reposição e lavagem dos recipientes foram feitas a cada dois dias.

As observações foram conduzidas por aproximadamente dez dias em cada estufa, quatro vezes dentro de um ano, abrangendo cada uma das estações do ano. Dessa forma, foi avaliado se o comportamento e a atividade de forrageio de *M. quadrifasciata* em estufa foi influenciado pela estação do ano. As observações foram realizadas entre 6h00 e 18h00 na primavera e verão, e entre 7h00 e 17h00 no outono e inverno – pois os dias são mais curtos – em intervalos de 30 minutos (6-6h30; 6h30-7h; 7-7h30, assim por diante até 17-17h30), quando foram quantificadas o número de abelhas forrageadoras retornando à colmeia com ou sem pólen por 10 minutos a cada meia hora. Para isso, instalamos uma filmadora em um tripé, que era focada na entrada de uma das caixas e iniciada a gravação por 10 minutos a cada rodada de observação. A câmera foi alocada em uma caixa diferente a cada dia. Os vídeos resultantes foram posteriormente analisados. O número de entradas de abelhas foi utilizado como *proxy* para medir a atividade da colônia. Para mensurar a atividade de coleta de pólen, que indicaria o período de maior visitação às flores de tomate, utilizamos como *proxy* o retorno de forrageiras com pólen à colônia, que foram identificadas pela carga de pólen presente em suas corbículas. Também foram realizadas caminhadas pelas estufas por 10 minutos, durante as quais foram quantificadas as visitas realizadas pelas abelhas às flores. Já para quantificar a desorientação do voo e a má aclimação ao ambiente fechado, foram utilizados 10 minutos para a contagem de abelhas nas paredes e teto da estufa.

Em relação ao número de visitas observadas das abelhas às flores, possuímos apenas as proporções de flores visitadas em relação ao número total de flores para os

experimentos de outono e inverno. Pois, por ajuste metodológico, foi quando começamos a estimar o número de flores no interior da estufa durante o período do experimento. Portanto, trabalharemos com comparação apenas para esses dois experimentos.

Experimentos de polinização

Para os experimentos de polinização controlada, previamente foi realizado um teste para verificar se o período de receptividade do estigma das flores se sobrepunha com o período de atividade das abelhas. Isso foi feito utilizando uma solução aquosa de peróxido de hidrogênio 6% sobre a superfície estigmática, e observamos a formação de bolhas (Kearns & Inouye, 1993). O teste foi conduzido das 07:00h às 12:00h, em 50 flores por manhã, durante três dias para cada um dos cultivares. Essas observações mostraram que 100% dos estigmas das flores recém-abertas dos três cultivares já estavam receptivos, mesmo antes do início do período de atividade das abelhas.

Para avaliar o efeito da polinização das abelhas sobre a produção de frutos em comparação aos métodos convencionais, foram conduzidos experimentos de polinização controlada. Os tratamentos utilizados foram: **1)** autopolinização espontânea ou controle (CTRL), no qual os botões florais foram ensacados com sacos de organza até a colheita dos frutos, sem sofrer ação da vibração manual ou visita de abelhas; **2)** polinização por vibração manual (VIB), no qual os botões foram ensacados até o fim de sua antese, para que não houvesse visitação das abelhas. Tais flores foram polinizadas por meio da técnica de batidas nos fitilhos de sustentação dos tomateiros que era realizado pelos funcionários da fazenda; **3)** polinização realizada apenas pela *M. quadrifasciata* (AB), no qual as flores ficaram expostas às visitas pelas abelhas até a formação de frutos; e **4)** polinização realizada pela vibração manual e pelas abelhas (ABV), no qual as flores foram mantidas sobre condições naturais e marcadas até a colheita dos frutos.

Os experimentos de polinização controlada foram realizados em quatro repetições ao longo de um ano, sendo cada repetição uma estação, assim, abrangendo outono, inverno, primavera e verão. Para cada tratamento de polinização foram utilizadas 70 flores (repetições) independentemente do cultivar utilizado. Por meio de um sorteio foram definidas sete parcelas, com aproximadamente 20 plantas cada, para cada cultivar presente, nas quais 10 flores foram escolhidas para receber o tratamento,

dando-se preferência para as que estivessem no 3º cacho e para as primeiras flores do cacho, assim evitando-se as flores das pontas dos cachos. O sorteio também determinou quais tratamentos cada parcela recebeu, porém com a condição de que os tratamentos controle (CTRL) e vibração por abelha (AB) ficassem nas mesmas linhas de cultivo, pois era necessário ter o menor número de linhas sem receber a polinização manual, a fim de haver menor impacto sobre a produção de tomates na estufa como um todo. Sobre os demais tratamentos não houve a mesma condição. A eficiência de polinização foi avaliada através do peso dos frutos e a massa seca das sementes com o uso de uma balança analítica digital (marca Bioprecisa® - modelo FA2104N). A massa seca da semente foi utilizada por apresentar uma alta correlação com o número de sementes (Del Sarto *et al* 2005), um índice clássico para mensurar a eficiência do polinizador. Para obter a massa seca das sementes, foi necessário um processo de lavagem e remoção da mucilagem que as recobre, em seguida foram submetidas a secagem em estufa por no mínimo 24h a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ e pesadas (Brasil, 2009).

Análise de dados

Para a análise dos experimentos de polinização realizou-se uma ANOVA com teste *posthoc* de Tukey para testar a diferença entre os pares dos tratamentos. Nós utilizamos análises de correlação de *Spearman* e *Pearson* para testar a correlação entre temperatura, luminosidade e umidade. Para avaliar a atividade das abelhas e de coleta de pólen dentro das estufas, foram utilizados como *proxy* o número de entradas e entradas com pólen das abelhas nas colônias, como variável resposta. Para isso foi conduzido um modelo linear generalizado (GLM) com família de distribuição binomial negativa, pois nossos dados apresentaram uma inflação por zeros (Zuur *et al.*, 2009). Em seguida, usamos o critério de informação de Akaike corrigido para amostras pequenas (AICc) para comparar um modelo completo incluindo a interação entre todas as variáveis preditoras (temperatura e estação) e o número de entradas de abelhas. Seguindo Burnham e Anderson (2004), considerou-se o melhor modelo aquele com $\Delta\text{AICc} = 0$. E foram utilizados pesos de Akaike (w_i) para estimar a importância relativa das variáveis preditoras ($\sum w_i$) presentes no modelo. Todas as análises foram feitas na linguagem de programação R versão 4.2.0 (R Core Team 2022).

RESULTADOS

Condição das colônias

Para os experimentos realizados na primavera e no verão houve um aumento no peso das colônias após o fim do experimento. Para os experimentos de outono e de inverno, observou-se uma redução no peso das colônias (Fig. 2).

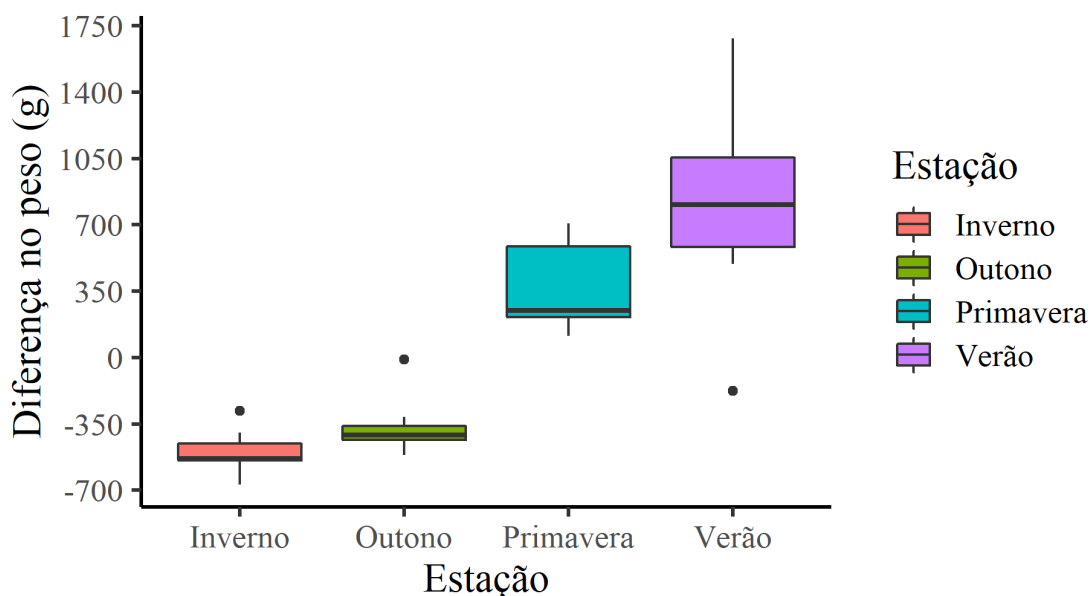


Figura 2. Diferença do peso das colônias entre início e o final de cada experimento.

Aclimação e atividade de forrageamento das operárias

Em relação a aclimação das abelhas à estufa medido com base na quantidade de abelhas que se chocam contra as paredes da estufa, notamos um maior número desse efeito ao longo dos primeiros dias do experimento, que ocasiona na morte de muitos animais (Fig. 3). Porém, há uma tendência de redução do número de abelhas se chocando com o passar dos dias (Tabela 3).

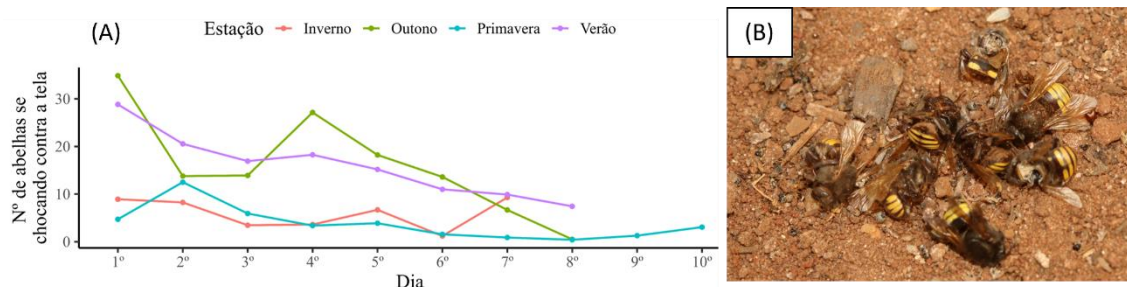


Figura 3. A) Média do número de abelhas se chocando contra as paredes da estufa ao longo da realização do experimento por estação; B) Animais mortos provavelmente de exaustão após ficarem se chocando contra a estufa.

Tabela 3. Mediana \pm SD do número de abelhas se chocando contra as paredes da estufa por dia ao longo da realização do experimento por estação. Entre parênteses está o número mínimo e máximo de abelhas contabilizadas ao longo do dia.

Dia	Outono	Inverno	Primavera	Verão
1°	29 \pm 17,0 (15 _{mín} – 57 _{máx})	8 \pm 6,0 (2 _{mín} – 21 _{máx})	3 \pm 2,8 (2 _{mín} – 8 _{máx})	14,5 \pm 27,0 (9 _{mín} – 70 _{máx})
2°	13 \pm 6,0 (7 _{mín} – 25 _{máx})	8 \pm 5,9 (0 _{mín} – 17 _{máx})	9,5 \pm 6,9 (7 _{mín} – 28 _{máx})	20 \pm 7,7 (11 _{mín} – 40 _{máx})
3°	7 \pm 12,9 (4 _{mín} – 39 _{máx})	3 \pm 3,4 (0 _{mín} – 9 _{máx})	4 \pm 3,5 (2 _{mín} – 13 _{máx})	9 \pm 17,9 (5 _{mín} – 66 _{máx})
4°	23 \pm 13,2 (14 _{mín} – 51 _{máx})	3 \pm 3,9 (0 _{mín} – 13 _{máx})	3,5 \pm 1,7 (1 _{mín} – 6 _{máx})	17,5 \pm 8,6 (9 _{mín} – 34 _{máx})
5°	18 \pm 13,0 (2 _{mín} – 35 _{máx})	4 \pm 7,5 (0 _{mín} – 21 _{máx})	4 \pm 3,0 (0 _{mín} – 8 _{máx})	10 \pm 9,7 (4 _{mín} – 33 _{máx})
6°	16 \pm 5,7 (3 _{mín} – 20 _{máx})	1 \pm 1,0 (0 _{mín} – 3 _{máx})	1 \pm 1,0 (0 _{mín} – 3 _{máx})	12 \pm 3,5 (6 _{mín} – 15 _{máx})
7°	6 \pm 2,2 (4 _{mín} – 11 _{máx})	0 \pm 12,0 (0 _{mín} – 26 _{máx})	0 \pm 1,2 (0 _{mín} – 4 _{máx})	11,5 \pm 5,3 (3 _{mín} – 18 _{máx})
8°	0,5 \pm 0,6 (0 _{mín} – 1 _{máx})	-	0 \pm 0,8 (0 _{mín} – 3 _{máx})	7 \pm 1,7 (5 _{mín} – 10 _{máx})
9°	-	-	1 \pm 1,2 (0 _{mín} – 3 _{máx})	-
10°	-	-	2 \pm 2,8 (0 _{mín} – 10 _{máx})	-

Tanto a atividade de coleta de pólen (Fig. 4) quanto a atividade da colônia na estufa (Fig. 5) foram influenciadas pela temperatura e estação do ano. Houve um aumento nas atividades das abelhas à medida que a temperatura aumenta, também foi observado que o outono se revelou como o período de menor atividade da colônia. A seleção de modelos mostrou que os modelos que melhor explicaram a atividade de coleta de pólen (Tabela 4) e atividade da colônia (Tabela 5) incluíram temperatura e estação do ano como variáveis preditoras

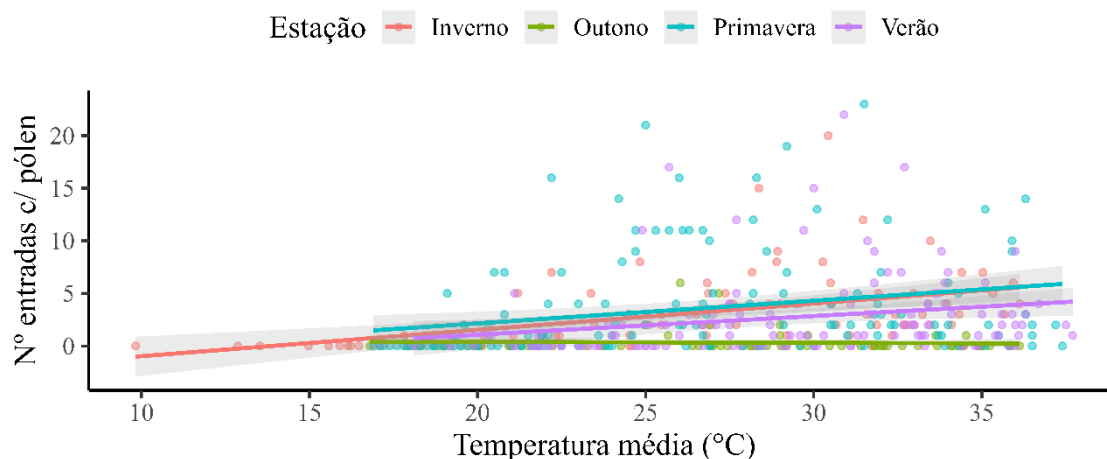


Figura 4. Relação entre entrada na colônia com pólen do tomateiro com a temperatura, separados por estação do ano estudada. Essa relação representa o modelo de melhor ajuste determinado na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados da análise de seleção de modelos de cinco modelos candidatos analisados por meio de modelos lineares generalizados para avaliar o efeito da temperatura e/ou estação do ano sobre a atividade de coleta de pólen do tomateiro cultivado em estufa. A média dos modelos foi calculada usando os pesos de Akaike (w_i) e a importância relativa da variável preditora (Σw_i). Os fatores usados nos modelos foram temperatura (T) e estação do ano (E). Os dois-pontos representam interações entre o par de fatores. O modelo de melhor ajuste e a variável com maior Σw_i estão destacados em negrito.

Modelos Candidatos	Fatores fixos com ou sem interação				d.f.	logLik	AICc	$\Delta AICc$	w_i
	Intercept	T	E	T:E					
T	13,200	-0,63			5,0	-812,537	1635,2	90,50	0,00
E	-1,0360		+		9,0	-815,404	1649,3	104,53	0,00
T+E	12,320	0,62	+		11,0	-767,768	1558,2	13,47	0,01
T:E	18,990	0,98	+	+	17,0	-754,584	1544,7	0,00	0,99
Modelo Nulo	-0,3075				3,0	-853,726	1713,5	168,79	0,00
Σw_i		1,00	1,00	0,99					

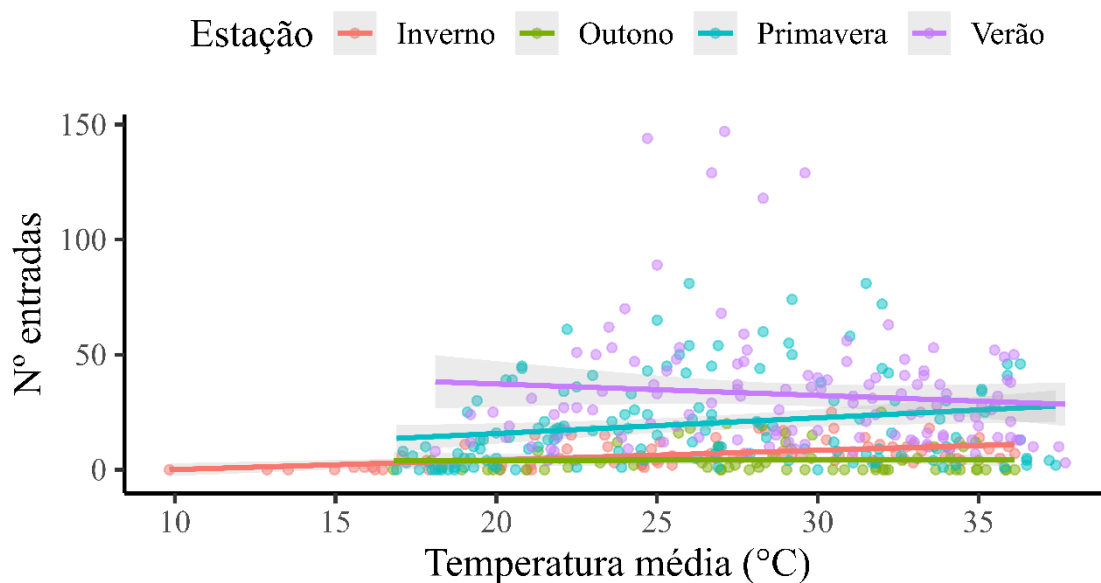


Figura 5. Relação entre entrada na colônia com a temperatura, separados por estação do ano estudada. Essa relação representa o modelo de melhor ajuste determinado na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados da análise de seleção de modelos de cinco modelos candidatos analisados por meio de modelos lineares generalizados para avaliar o efeito da temperatura e/ou estação do ano sobre a atividade da colônia em estufa. A média dos modelos foi calculada usando os pesos de Akaike (w_i) e a importância relativa da variável preditora (Σw_i). Os fatores usados nos modelos foram temperatura (T) e estação do ano (E). Os dois-pontos representam interações entre o par de fatores. O modelo de melhor ajuste e a variável com maior Σw_i estão destacados em negrito.

Modelos Candidatos	Fatores fixos com ou sem interação				d.f.	logLik	AICc	$\Delta AICc$	w_i
	Intercept	T	E	T:E					
T	10,960	-0,66			5	-1589,3	3188,8	209,56	0,00
E	-2,853		+		9	-1509,1	3036,7	57,47	0,00
T+E	1,483	-0,14	+		11	-1491,5	3005,6	26,35	0,00
T:E	8,877	-0,56	+	+	17	-1471,8	2979,2	0,00	1,00
Modelo Nulo	-1,982				3	-1613,2	3232,5	253,30	0,00
Σw_i		1,00	1,00	1,00					

Ao longo do dia, os picos de atividade de *M. quadrifasciata* se concentraram no período da manhã, entre as 8h00 e 11h00, quando normalmente a temperatura estava entre 20 e 30°C (Fig. 6).

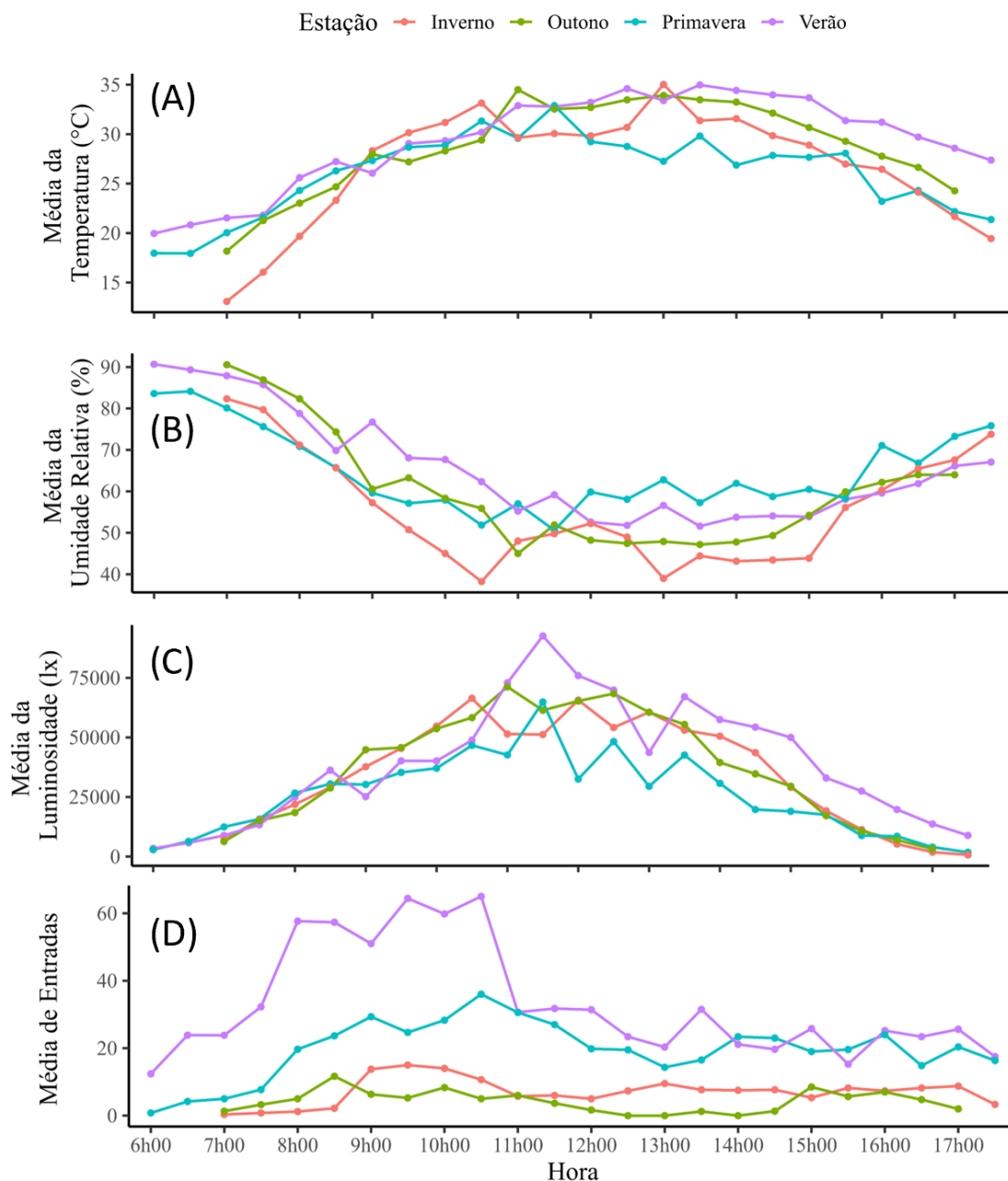


Figura 6. A) Temperatura média; B) umidade relativa média; C) luminosidade média e D) número de entradas na colônia ao longo do dia nas diferentes estações.

As visitas às flores foram registradas em média $2,87 \pm 1,01$ visitas/hora no inverno, enquanto apenas $0,28 \pm 0,66$ visitas/hora foram registradas no outono.

Experimento de Polinização

Para os experimentos conduzidos durante a primavera e o verão, não foram obtidas quantidades significativas de frutos de nenhuma das variedades testadas para posterior análise. Esse fato, provavelmente, se deu por ser um período de temperaturas

elevadas, o que ocasionou em um alto número de abortos e o não desenvolvimento das flores e frutos (Sato *et al.*, 2001), além de terem ocorrido infestações severas em toda estufa por *Cladosporium* sp (Fig. 7). Para os experimentos de outono e inverno, foi trabalhado apenas com os frutos da variedade mini italiano, dos quais mensuramos o peso dos frutos e a massa seca das sementes (Tabela 6).

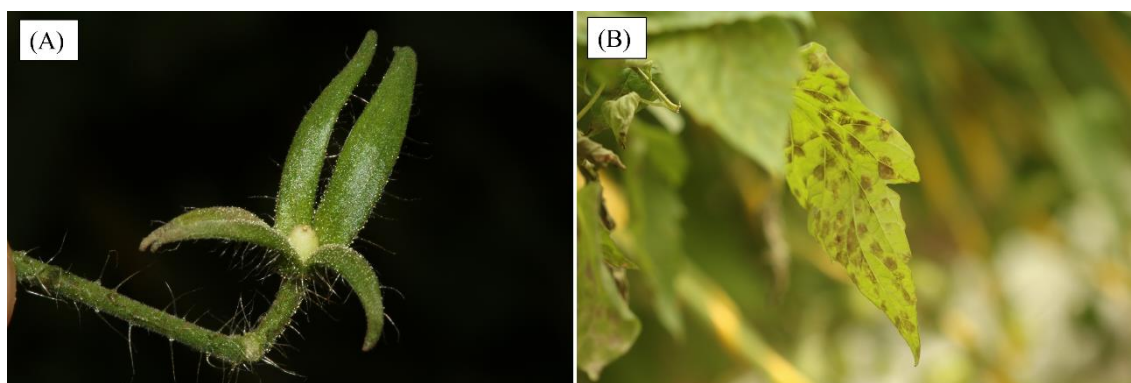


Figura 7. A) Ovário do tomateiro não desenvolvido; B) Folha do tomateiro com infecção pelo *Cladosporium* sp.

Tabela 6. Média (\pm SD) do peso dos frutos e da massa seca das sementes sobre os diferentes tratamentos de polinização e nas estações do ano estudadas. N representa o número de frutos obtidos e amostrado dentre o total tratado. Letras diferentes após a média indicam diferença estatística entre os tratamentos. Vibração por abelhas (AB), vibração manual e por abelhas (ABV), controle ou autopolinização espontânea (CTRL) e vibração manual (VIB).

Tratamento	Estação	N	Média Peso do Fruto (g)	N	Massa seca da semente (mg)
AB	Inverno	102/140	12,04 (\pm 2,86) a	80/140	119,9 (\pm 28) a
ABV	Inverno	105/140	11,35 (\pm 2,40) ab	66/140	113,4 (\pm 30) ab
VIB	Inverno	117/140	10,39 (\pm 2,65) c	78/140	106,2 (\pm 33) bc
CTRL	Inverno	87/140	10,43 (\pm 2,92) bc	73/140	96,5 (\pm 39) c
AB	Outono	41/70	12,56 (\pm 2,42) a	41/70	77,0 (\pm 28) a
ABV	Outono	48/70	11,93 (\pm 3,03) ab	48/70	82,4 (\pm 30) a
VIB	Outono	39/70	10,33 (\pm 3,38) b	39/70	67,8 (\pm 31) a
CTRL	Outono	21/70	11,72 (\pm 2,85) ab	21/70	76,5 (\pm 31) a

Os tratamentos que receberam apenas a polinização biótica pela abelha resultaram frutos mais pesados, tanto no inverno ($F = 4,0521$; $p < 0,01$) quanto no outono ($F = 8,801$; $p < 0,001$; Fig. 8). Os frutos do tratamento vibração por abelhas do inverno foram 14% mais pesados do que o tratamento de vibração manual. Já no outono os frutos do tratamento vibração por abelhas foram 18% mais pesados que o tratamento de vibração manual.

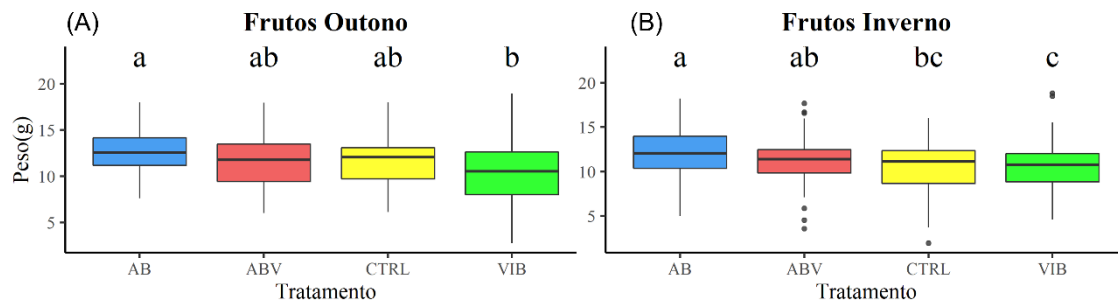


Figura 8. Diferença de peso dos frutos entre os tratamentos na variedade mini italiano. **A)** frutos do outono ($F = 4,0521$; $p < 0,01$); **B)** frutos do inverno ($F = 8,801$; $p < 0,001$). Vibração por abelhas (AB), vibração manual e por abelhas (ABV), controle ou autopolinização espontânea (CTRL) e vibração manual (VIB). Letras diferentes sobre as caixas indicam diferença estatística entre os tratamentos.

Para as sementes, não houve diferença significativa no peso seco entre os tratamentos no outono ($F = 1,6941$; $p > 0,05$), porém, durante o inverno houve uma diferença significativa entre os tratamentos de vibração por abelhas e vibração manual ($F = 7,0332$; $p < 0,001$; Fig. 9). As sementes dos frutos resultantes do tratamento vibração por abelhas foram, em média, 12% mais pesadas do que aquelas resultantes do tratamento de vibração manual.

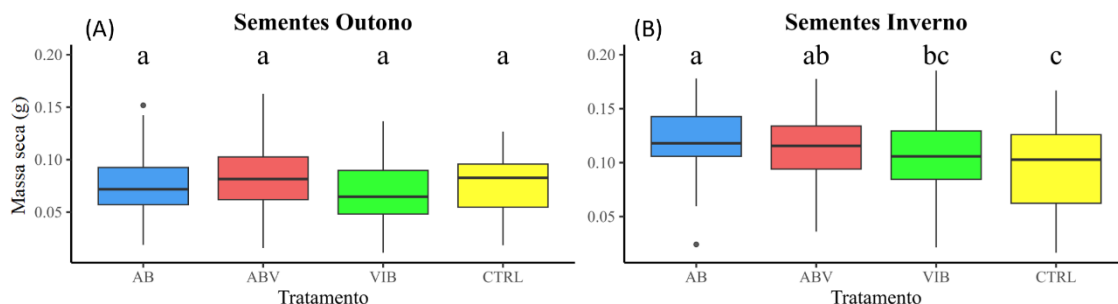


Figura 9. Diferença de massa das sementes entre os tratamentos na variedade mini italiano. **A)** sementes do outono ($F = 1,6941$; $p > 0,05$); **B)** sementes do inverno ($F = 7,0332$; $p < 0,001$). Vibração por abelhas (AB), vibração manual e por abelhas (ABV), controle ou autopolinização espontânea (CTRL) e vibração manual (VIB). Letras diferentes sobre as caixas indicam diferença estatística entre os tratamentos.

DISCUSSÃO

O período de aclimação das abelhas à estufa se demonstrou necessário. Nos primeiros dias após a introdução das colônias, as campeiras parecem se desorientar ou tentar escapar, chocando-se constantemente contra o teto e laterais da estufa, período no qual há grande mortalidade de abelhas. Constatou-se que as campeiras se concentravam mais onde havia maior foco da luz do sol nas laterais da estufa, principalmente ao

amanhecer e ao entardecer, tal comportamento já foi apontado como uma das dificuldades a serem contornados para a introdução das abelhas em estufa (veja Slaa et al., 2006). Outro efeito que parece interferir na mortalidade das abelhas é a homogeneidade do ambiente no interior da estufa. Como uma das formas que as abelhas utilizam para se orientar são marcos nas paisagens e o ângulo de incidência do sol (Frisch, 1974; Menzel *et al.*, 2000), o ambiente homogêneo da estufa parece dificultar a orientação das operárias na estufa e o reconhecimento das operárias por suas próprias colônias, desta forma, acabam invadindo outras colônia, o que culmina em interações agonísticas entre as operárias e consequente morte de indivíduos ([material suplementar](#)).

Durante o inverno, período de clima mais ameno, não foram observadas abelhas campeiras acessando a alimentação de solução oferecida, justamente foi o período no qual se observou maior enfraquecimento das colônias avaliado pela perda de peso das caixas ao longo do experimento. Logo, elas aparentam ter passado por este período do experimento com os próprios recursos da colônia, o que pode ocasionar em maior estresse e esgotamento para as abelhas. Assim, constatou-se a necessidade de haver cuidados intensivos quando essas colônias forem retiradas das estufas, com a suplementação da alimentação com xarope de açúcar 50% e pólen fermentado (Aidar & Campos, 1998).

Também podemos constatar que a medição somente dos pesos das caixas, como proposto inicialmente, não é uma variável boa para medir a saúde do ninho. Houve um aumento no peso nos dois primeiros experimentos, que pode ser devido ao hábito desta espécie de coletar barro para compor o revestimento interno da colônia (Nogueira-Neto, 1997), ocasionando em um aumento significativo do peso da colônia. Já nos dois últimos experimentos observou-se uma diminuição no peso das caixas, que converge com o mesmo período no qual as campeiras passaram a apresentar desinteresse pela solução de açucarada. Portanto, sugerimos a utilização de métodos mais invasivos para constatar a qualidade dos ninhos, abrindo-se as colônias e se caracterizando qualitativamente a sua saúde. Por exemplo, com a avaliação quantitativa de potes de mel e pólen, maturidade dos discos de crias superficiais, número de células de cria em construção, defensibilidade e avistamento da rainha.

Já nos experimentos do outono e inverno, nos quais foram cultivados apenas a variedade mini italiano, o potencial de *Melipona quadrifasciata* como agente polinizador do tomate cultivado em estufa ficou bastante evidenciado. O tratamento

apenas com vibração por abelha foi 14% mais pesado do que o tratamento com vibração manual no inverno, e 18% a mais no outono. Dos mesmos frutos do inverno tivemos maior massa seca, que se correlaciona altamente com o número de sementes. Isso corrobora com o fato de que as abelhas desempenham uma melhor deposição polínica sobre o estigma do que a polinização manual (Dogterom *et al.*, 1998; Hogendoorn *et al.*, 2006; Meyrelles, 2013; Bartelli & Nogueira-Ferreira, 2014), havendo maior número de fecundações e maior produção de sementes, que está relacionado com frutos mais pesados (Varga & Bruinsma, 1976; Hogendoorn *et al.* 2000). Entretanto, o mesmo resultado para a massa seca das sementes não tenha sido encontrado para o outono. Concluimos que a diferença na taxa de visita tenha impactado nesse resultado. O maior número de abelhas ativas visitando as flores no inverno impactou na maior diferença encontrada entre os pesos dos frutos, influenciando até mesmo a quantidade de sementes. Por outro lado, o menor número de visitas no outono trouxe um impacto menor sobre os frutos, que inclusive não se traduziu em variações na quantidade de sementes.

As características usadas para avaliar a qualidade dos frutos, como o seu peso, bem como a massa seca das sementes, não apresentaram diferença significativa entre o grupo de controle (autopolinização espontânea) e o grupo que recebeu apenas vibração manual. Resultados semelhantes foram observados também para a massa das sementes e a circunferência dos frutos em frutos provenientes da autopolinização, polinização manual suplementar e vibração manual com a presença de abelhas (veja Del Sarto *et al.*, 2005 e Deprá *et al.*, 2014).

Tanto a atividade da colônia quanto a de coleta de pólen por *M. quadrifasciata* são afetados pela época do ano e pela temperatura. Observou-se que ao longo do dia a atividade se concentra pela manhã, comportamento também observado nessa espécie em meio natural (Oliveira-Abreu *et al.* 2014). No interior das estufas, durante o período da manhã as temperaturas são mais favoráveis, ficando entre 15°C e 30°. É sabido que *M. quadrifasciata* diminui sua atividade em temperaturas abaixo de 14°C ou acima de 29°C (Hikawa & Miyanaga, 2009; Oliveira-Abreu *et al.* 2014). Do meio-dia em diante as temperaturas ficam muito altas, acima dos 30°C, podendo induzir as abelhas a diminuir a atividade externa devido ao risco de superaquecimento das campeiras, ou por induzir o comportamento de ventilação no interior da colônia para baixar a temperatura (Wille, 1976, Roubik, 1993; Roubik, 2006; Meyrelles, 2013). A estação,

como outra variável preditora, pode exercer influência devido a uma sazonalidade aparente que ocorre no outono na atividade dessa espécie, assim, apresentando maior atividade de forrageio do final do inverno até o final do verão, como observado para outras abelhas da família Apidae e tribo Meliponini (Roubik, 1982; Truylio & Harter-Marques, 2007; Ferreira Junior *et al.*, 2010). Esse comportamento provavelmente está associado com a dinâmica de abundância de recurso em seu ambiente natural, uma vez que há menos flores na estação seca.

Mais um fator que corrobora com a existência de uma forte sazonalidade no comportamento de *M. quadrifascita* é a grande diferença encontrada entre o número de visitas às flores no outono e inverno, tendo o inverno até dez vezes mais visitas. Assim, os indícios sugerem a possibilidade de que as colônias de *M. quadrifascita* entrem em um período de diapausa no outono. A diapausa pode ser definida como uma interrupção gradual e progressiva no desenvolvimento, ontogenia ou atividade de um organismo em alguma fase do ciclo de vida, a fim de sobreviver a condições ambientais desfavoráveis (Denlinger, 1986; Košťál, 2006). O desenvolvimento de um comportamento de diapausa nessa espécie pode ter surgido devido ao outono e início do inverno ser o período de menor número de recursos disponíveis para os polinizadores no ambiente natural. Embora, tal comportamento tenha sido registrado em ambiente não natural, estufas de cultivo, há indícios desta diapausa em meio natural, sendo relatado por Nogueira-Neto (1997). Ademais, é registrado para outras abelhas da tribo Meliponini que apresentam distribuição nas Regiões Sul do Brasil e no estado de São Paulo, como as do gênero *Plebeia* (dos Santos *et al.*, 2015). Portanto, visando a utilização em ampla escala da *M. quadrisfasciata* em território nacional, será de grande relevância a total compreensão desse comportamento sazonal, principalmente para os cultivos realizados nas regiões sul e sudeste do país.

CONCLUSÃO

A integração de abelhas nativas sem ferrão na agricultura é um campo em expansão com desafios a serem superados, como a disponibilidade de colônias e a avaliação do impacto ambiental do transporte desses polinizadores pelo país. Este estudo evidenciou a contribuição dessas espécies na produção agrícola em cultivo fechado. Isso mostra

como a utilização da fauna apícola nativa é uma peça-chave para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável, na qual a produção agrícola é mantida ou aumentada sem maiores impactos ambientais (Baulcombe et al., 2009), alinhando-se aos objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU. Para isso, se faz necessário o melhor conhecimento de sua biologia para otimizar o seu uso na agricultura, permitindo o desenvolvimento de melhores práticas de manejo específicas para esses polinizadores. Portanto, investimentos e pesquisas para entender a diversidade apícola e maximizar seu potencial na agricultura são vitais, exigindo ações tanto em políticas nacionais quanto internacionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou-Shaara, H. F., Owayss, A. A., Ibrahim, Y. Y., & Basuny, N. K.** (2017). A review of impacts of temperature and relative humidity on various activities of honey bees. *Insectes sociaux*, 64, 455-463.
- Adhikari, R. D., & Miyanaga, R.** (2016). Utilization of hairy footed flower bee *Anthophora plumipes* (Hymenoptera: Apidae) for pollination of greenhouse strawberry. *Advances in Entomology*, 4(1), 25-31.
- Aidar, D. S., & Campos, L. A.** (1998). Manejo e manipulação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Apidae: Meliponinae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 27, 157-159.
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., Gonçalves, J. D. M., & Sparovek, G.** (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische zeitschrift*, 22(6), 711-728.
- Araújo, E. D., Costa, M., Chaud-Netto, J., & Fowler, H. G.** (2004). Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology*, 64, 563-568.
- Bartelli, B. F., Guimarães, B. M. D. C., Borges, N. C. M., & Nogueira-Ferreira, F. H.** (2021). Not all about the buzz: licking, a new foraging behavior of bees in tomato flowers. *Journal of Apicultural Research*, 1-8.
- Bartelli, B. F., & Nogueira-Ferreira, F. H.** (2014). Pollination services provided by *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses with *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). *Sociobiology*, 61(4), 510-516.
- Bartelli, B. F., Santos, A. O. R., & Nogueira-Ferreira, F. H.** (2014). Colony performance of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a Greenhouse of *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). *Sociobiology*, 61(1), 60-67.
- Baulcombe, D., Crute, I., Davies, B., Dunwell, J., Gale, M., Jones, J., ... & Toulmin, C.** (2009). Reaping the benefits: science and the sustainable intensification of global agriculture. The Royal Society.
- Bergamini, B., Lima, F. G., Gonçalves, B. B., Bergamini, L. L., Bergamini, B. A. R., da Silva Elias, M. A., & Franceschinelli, E. V.** (2013). Native bees pollinate tomato flowers and increase fruit production. *Journal of Pollination Ecology*, 11(6), 41-45.
- Bomfim, I. G. A., de Melo Bezerra, A. D., Nunes, A. C., de Aragão, F. A. S., & Freitas, B. M.** (2014). Adaptive and foraging behavior of two stingless bee species in greenhouse mini watermelon pollination. *Sociobiology*, 61(4), 502-509.
- Bosch, J., & Blas, M.** (1994). Foraging behaviour and pollinating efficiency of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* on almond (Hymenoptera, Megachilidae and Apidae). *Applied Entomology and Zoology*, 29(1), 1-9.

- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária.** (2009). Regras para análise de sementes.
- Burkle, L. A., Marlin, J. C., & Knight, T. M.** (2013). Plant-pollinator interactions over 120 years: loss of species, co-occurrence, and function. *Science*, 339(6127), 1611-1615.
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R.** (2004). Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. *Sociological methods & research*, 33(2), 261-304.
- Canto-Aguilar, M. A., & Parra-Tabla, V.** (2000). Importance of conserving alternative pollinators: assessing the pollination efficiency of the squash bee, *Peponapis limitaris* in *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). *Journal of Insect Conservation*, 4, 201-208.
- Caro, A., Moo-Valle, H., Alfaro, R., & Quezada-Euán, J. J. G.** (2017). Pollination services of Africanized honey bees and native *Melipona beecheii* to buzz-pollinated annatto (*Bixa orellana* L.) in the neotropics. *Agric For Entomol*, 19, 274-280.
- Cavaliasso, P., Bello, F., Rivadeneira, M. F., Monzon, N. O., Gennari, G. P., & Basualdo, M.** (2020). Pollination Efficiency of Managed Bee Species (and) in Highbush Blueberry () Productivity. *Journal of Horticultural Research*, 28(1), 57-64.
- Chang, J., Wu, X., Wang, Y., Meyerson, L. A., Gu, B., Min, Y., ... & Ge, Y.** (2013). Does growing vegetables in plastic greenhouses enhance regional ecosystem services beyond the food supply?. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(1), 43-49.
- Chaplin-Kramer, R., Dombek, E., Gerber, J., Knuth, K. A., Mueller, N. D., Mueller, M., ... & Klein, A. M.** (2014). Global malnutrition overlaps with pollinator-dependent micronutrient production. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1794), 20141799.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO.** Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 8, oitavo levantamento, maio. 2021a.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO.** Acompanhamento da Safra Brasileira de Café, Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 2, maio. 2021b.
- Cooley, H., & Vallejo-Marín, M.** (2021). Buzz-pollinated crops: a global review and meta-analysis of the effects of supplemental bee pollination in tomato. *Journal of Economic Entomology*, 114(2), 505-519.
- Costa, J. M., & Heuvelink, E.** (2007). Today's worldwide tomato production. *Fruit & Veg tech*, 2007, 14-16.
- Cruz, D. D. O., Freitas, B. M., Silva, L. A. D., Silva, E. M. S. D., & Bomfim, I. G. A.** (2005). Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, 1197-1201.
- Czekońska, K., Łopuch, S., Miścicki, S., Bańkowski, J., & Szabla, K.** (2023). Monitoring of hive weight changes in various landscapes. *Apidologie*, 54(3), 30.

- da Cunha, A. R., & Martins, D.** (2009). Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. *Irriga*, 14(1), 1-11.
- De Marco, P., & Coelho, F. M.** (2004). Services performed by the ecosystem: forest remnants influence agricultural cultures' pollination and production. *Biodiversity & Conservation*, 13, 1245-1255.
- de Oliveira Campos, M.J., Pizano, M.A., Neto, J.C., Malaspina, O., Patricio, G.B., Gomig, E.G., Leung, R., de Souza, L., do Carmo Giordano, L., & Villas-Boas, J.K.** (2014). Manejo agrícola e conservação de abelhas com potencial para a polinização de tomateiros.
- Del Sarto, M. C. L., Peruquetti, R. C., & Campos, L. A. O.** (2005). Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 98(2), 260-266.
- Delaplane, K. S., & Mayer, D. F.** (2000). Crop pollination by bees. CABI publishing.
- Denlinger, D. L.** (1986). Dormancy in tropical insects. *Annual review of entomology*, 31(1), 239-264.
- Deprá, M. S., Delaqua, G. G., Freitas, L., & Gaglianone, M. C.** (2014). Pollination deficit in open-field tomato crops (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) in Rio de Janeiro state, southeast Brazil. *Journal of Pollination Ecology*, 12, 1-8.
- Dicks, L. v, Viana, B., Bommarco, R., Brosi, B., Arizmendi, M. del C., Cunningham, S.A., Galetto, L., Hill, R., Lopes, A. v, Pires, C., Taki, H., & Potts, S.G.** (2016). Ten policies for pollinators. *Science*, 354(6315), 975-976.
- Dogantzis, K. A., Tiwari, T., Conflitti, I. M., Dey, A., Patch, H. M., Muli, E. M., ... & Zayed, A.** (2021). Thrice out of Asia and the adaptive radiation of the western honey bee. *Science advances*, 7(49), eabj2151.
- Dogterom, M. H., Matteoni, J. A., & Plowright, R. C.** (1998). Pollination of greenhouse tomatoes by the North American *Bombus vosnesenskii* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(1), 71-75.
- Dos Santos, S. A., Roselino, A. C., Hrcir, M., & Bego, L. R.** (2009). Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). *Genet. Mol. Res*, 8(2), 751-757.
- Dos Santos, C. F., Nunes-Silva, P., Halinski, R., & Blochtein, B.** (2015). Diapause in stingless bees (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*.
- Ellis, A. M., Myers, S. S., & Ricketts, T. H.** (2015). Do pollinators contribute to nutritional health?. *PLoS One*, 10(1), e114805.
- Estravis-Barcala, M. C., Palottini, F., Macri, I., Nery, D., & Farina, W. M.** (2021). Managed honeybees and South American bumblebees exhibit complementary foraging patterns in highbush blueberry. *Scientific Reports*, 11(1), 8187.

- Ferreira Junior, N. T., Blochtein, B., & Moraes, J. F. D.** (2010). Seasonal flight and resource collection patterns of colonies of the stingless bee *Melipona bicolor schencki* Gribodo (Apidae, Meliponini) in an Araucaria forest area in southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 54, 630-636.
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., ... & Zaks, D. P.** (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7369), 337-342.
- Fontes, E. M. G., Campos, L. D. O., Sujii, E., Torezani, K. D. S., de Souza, L. M., de Sousa, A. A. T. C., ... & Pires, C.** (2016). Metodologia de seleção de abelhas sem ferrão para polinização em cultivos protegidos. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Documentos (INFOTECA-E)*.
- Frisch, K. V.** (1974). Decoding the language of the bee. *Science*, 185(4152), 663-668.
- Garibaldi, L. A., Requier, F., Rollin, O., & Andersson, G. K.** (2017). Towards an integrated species and habitat management of crop pollination. *Current opinion in insect science*, 21, 105-114.
- Gemmill-Herren, B., & Ochieng, A. O.** (2008). Role of native bees and natural habitats in eggplant (*Solanum melongena*) pollination in Kenya. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 127(1-2), 31-36.
- Giannini, T. C., Cordeiro, G. D., Freitas, B. M., Saraiva, A. M., & Imperatriz-Fonseca, V. L.** (2015). The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. *Journal of economic entomology*, 108(3), 849-857.
- Goulson, D., Lye, G. C., & Darvill, B.** (2008). Decline and conservation of bumble bees. *Annu. Rev. Entomol.*, 53, 191-208.
- Grande, L., Luz, J. M. Q., Melo, B. D., Lana, R. M. Q., & Carvalho, J. O. M. D.** (2003). O cultivo protegido de hortaliças em Uberlândia-MG. *Horticultura Brasileira*, 21, 241-244.
- Guerra-Sanz, J. M.** (2008). Crop pollination in greenhouses. *Bee pollination in agricultural ecosystems*, 27-47.
- Hanafi, A., & Rapisarda, C.** (2017). Integrated pest management and good agricultural practice recommendations in greenhouse crops. In *Integrated pest management in tropical regions* (pp. 204-228). Wallingford UK: CABI.
- Higo, H. A., Rice, N. D., Winston, M. L., & Lewis, B.** (2004). Honey bee (Hymenoptera: Apidae) distribution and potential for supplementary pollination in commercial tomato greenhouses during winter. *Journal of economic entomology*, 97(2), 163-170.
- Higuti, A. R. O., Godoy, A. R., Salata, A. D. C., & Cardoso, A. I. I.** (2010). Produção de tomate em função da "vibração" das plantas. *Bragantia*, 69, 87-92.
- Hikawa, M., & Miyanaga, R.** (2009). Effects of pollination by *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) on tomatoes in protected culture. *Applied Entomology and Zoology*, 44(2), 301-307.

- Hogendoorn, K., Steen, Z., & Schwarz, M. P.** (2000). Native Australian carpenter bees as a potential alternative to introducing bumble bees for tomato pollination in greenhouses. *Journal of Apicultural Research*, 39(1-2), 67-74.
- Hogendoorn, K., Gross, C. L., Sedgley, M., & Keller, M. A.** (2006). Increased tomato yield through pollination by native Australian *Amegilla chlorocyanea* (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Economic Entomology*, 99(3), 828-833.
- IPBES.** (2016). The assessment report on pollinators, pollination and food production. Secretariat of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services, 552.
- Javorek, S. K., Mackenzie, K. E., & Vander Kloet, S. P.** (2002). Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on lowbush blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(3), 345-351.
- Kakutani, T., Inoue, T., Tezuka, T., & Maeta, Y.** (1993). Pollination of strawberry by the stingless bee, *Trigona minangkabau*, and the honey bee, *Apis mellifera*: an experimental study of fertilization efficiency. *Researches on population ecology*, 35, 95-111.
- Kearns, C. A., & Inouye, D. W.** (1993). *Techniques for pollination biologists*. University press of Colorado.
- King, M. J., & Buchmann, S. L.** (2003). Floral sonication by bees: mesosomal vibration by *Bombus* and *Xylocopa*, but not *Apis* (Hymenoptera: Apidae), ejects pollen from poricidal anthers. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 295-305.
- King, M. J.** (1993). Buzz foraging mechanism of bumble bees. *Journal of Apicultural Research*, 32(1), 41-49.
- Klein, A. M., Steffan-Dewenter, I., & Tschardtke, T.** (2003). Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1518), 955-961.
- Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tschardtke, T.** (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 274(1608), 303-313.
- Košťál, V.** (2006). Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of insect physiology*, 52(2), 113-127.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., & Rubel, F.** (2006). World map of the Köppen-Geiger climate classification updated.
- Maia-Silva, C., Imperatriz-Fonseca, V. L., Silva, C. I., & Hrncir, M.** (2014). Environmental windows for foraging activity in stingless bees, *Melipona subnitida* Ducke and *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Sociobiology*, 61(4), 378-385.

- Mann, L. K.** (1953). Honey bee activity in relation to pollination and fruit set in the cantaloupe (*Cucumis melo*). *American Journal of Botany*, 545-553.
- Menzel, R., Brandt, R., Gumbert, A., Komischke, B., & Kunze, J.** (2000). Two spatial memories for honeybee navigation. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 267(1447), 961-968.
- Meyrelles, B. G.** (2013). Polinização do tomate cereja por abelhas nativas em cultivo protegido.
- Milfont, M. de O., Rocha, E. E. M., Lima, A. O. N., & Freitas, B. M.** (2013). Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. *Environmental chemistry letters*, 11, 335-341.
- Nahir, D., Gan-Mor, S., Rylski, I., & Frankel, H.** (1984). Pollination of tomato flowers by a pulsating air jet. *Transactions of the ASAE*, 27(3), 894-0896.
- Nogueira-Neto, P.** (1997). Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. In *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão* (pp. 446-446).
- Nunes-Silva, P., Hrnčir, M., da Silva, C. I., Roldão, Y. S., & Imperatriz-Fonseca, V. L.** (2013). Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. *Apidologie*, 44, 537-546.
- Oliveira-Abreu, C., Hilário, S. D., Luz, C. F. P., & dos Santos, I. A.** (2014). Pollen and nectar foraging by *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in natural habitat. *Sociobiology*, 61(4), 441-448.
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S.** (2011). How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos*, 120(3), 321-326.
- Ollerton, J., Erenler, H., Edwards, M., & Crockett, R.** (2014). Extinctions of aculeate pollinators in Britain and the role of large-scale agricultural changes. *Science*, 346(6215), 1360-1362.
- Partap, U., & Ya, T.** (2012). The human pollinators of fruit crops in Maoxian County, Sichuan, China. *Mountain Research and Development*, 32(2), 176-186.
- Peralta, I. E., Spooner, D. M., & Knapp, S.** (2008). Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae). *Systematic botany monographs*, 84.
- Pinheiro, J. N., & Freitas, B. M.** (2010). Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. *Oecologia australis*, 14(1), 266-281.
- Pires, C. S. S., Pereira, F. D. M., Lopes, M. T. D. R., Nocelli, R. C. F., Malaspina, O., Pettis, J. S., & Teixeira, É. W.** (2016). Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51, 422-442.
- Plath, O. E.** (1923). Breeding experiments with confined *Bremus* (*Bombus*) queens. *The Biological Bulletin*, 45(6), 325-341.

- Polatto, L. P., Chaud-Netto, J., & Alves-Junior, V. V.** (2014). Influence of abiotic factors and floral resource availability on daily foraging activity of bees: influence of abiotic and biotic factors on bees. *Journal of Insect Behavior*, 27, 593-612.
- Pressman, E., Shaked, R., Rosenfeld, K., & Hefetz, A.** (1999). A comparative study of the efficiency of bumble bees and an electric bee in pollinating unheated greenhouse tomatoes. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 74(1), 101-104.
- Pritchard, D. J., & Vallejo-Marín, M.** (2020). Buzz pollination. *Current Biology*, 30(15), R858-R860.
- Reisser Junior, C.** (2015). ESTUFAS: cultivo de tomate em estufa é opção interessante.
- Roubik, D. W.** (1982). Seasonality in colony food storage, brood production and adult survivorship: studies of *Melipona* in tropical forest (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 789-800.
- Roubik, D. W.** (1993). Tropical pollinators in the canopy and understory: field data and theory for stratum "preferences". *Journal of Insect Behavior*, 6, 659-673.
- Roubik, D. W.** (2006). Stingless bee nesting biology. *Apidologie*, 37(2), 124-143.
- Santos, A. O. R., Bartelli, B. F., & Nogueira-Ferreira, F. H.** (2014). Potential pollinators of tomato, *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae), in open crops and the effect of a solitary bee in fruit set and quality. *Journal of economic entomology*, 107(3), 987-994.
- Sakagami, F. S.** (1976). Specific differences in the bionomic characters of bumblebees. A comparative review. *J. Fac. Sci., Hokkaido Univ., Ser. 6. Zool*, 20, 390-447.
- Sato, S., Peet, M. M., & Gardner, R. G.** (2001). Formation of parthenocarpic fruit, undeveloped flowers and aborted flowers in tomato under moderately elevated temperatures. *Scientia Horticulturae*, 90(3-4), 243-254.
- Silva, B. A., Silva, A. D., & Pagiuca, L. G.** (2014). Cultivo protegido: em busca de mais eficiência produtiva. *Hortifruti Brasil*, 1, 10-18.
- Siqueira, K. M. M. D., Kiill, L. H. P., Martins, C. F., Lemos, I. B., Monteiro, S. P., & Feitoza, E. D. A.** (2009). Ecologia da polinização do maracujá-amarelo, na região do vale do submédio São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31, 1-12.
- Slaa, E. J., Chaves, L. A. S., Malagodi-Braga, K. S., & Hofstede, F. E.** (2006). Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37(2), 293-315.
- Sladen F.W.L.** (1912) *The humble-bee*, MacMillan, London.
- Smith, M. R., Singh, G. M., Mozaffarian, D., & Myers, S. S.** (2015). Effects of decreases of animal pollinators on human nutrition and global health: a modelling analysis. *The Lancet*, 386(10007), 1964-1972.

- Truylio, B., & Harter-Marques, B.** (2007). A comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em áreas florestais do Parque Estadual de Itapuã (Viamão, RS): diversidade, abundância relativa e atividade sazonal. *Iheringia. Série Zoologia*, 97, 392-399.
- Vaissière, B., Freitas, B. M., & Gemmill-Herren, B.** (2011). Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use (pp. 81-p). FAO.
- Vallejo-Marín, M.** (2019). Buzz pollination: studying bee vibrations on flowers. *New Phytologist*, 224(3), 1068-1074.
- Varga, A., & Bruinsma, J.** (1976). Roles of seeds and auxins in tomato fruit growth. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 80(2), 95-104.
- Velthuis, H. H., & Van Doorn, A.** (2006). A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 37(4), 421-451.
- Westerkamp, C., & Gottsberger, G.** (2000). Diversity pays in crop pollination. *Crop science*, 40(5), 1209-1222.
- Wille, A.** (1976). Las abejas jicotes del género *Melipona* (Apidae: Meliponini) de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 24(1), 123-147.
- Winfree, R., Aguilar, R., Vázquez, D. P., LeBuhn, G., & Aizen, M. A.** (2009). A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90(8), 2068-2076.
- Winston, M. L.** (1992). The biology and management of Africanized honey bees. *Annual review of entomology*, 37(1), 173-193.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N., Saveliev, A. A., Smith, G. M., Zuur, A. F., ... & Smith, G. M.** (2009). Zero-truncated and zero-inflated models for count data. *Mixed effects models and extensions in ecology with R*, 261-293.