

UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS - UNISINOS
UNIDADE ACADÊMICA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA



**INTERAÇÃO ENTRE VISITANTES FLORAIS E MIRTILO (*Vaccinium ashei* Reade):
O EFEITO DA VARIAÇÃO DA MORFOLOGIA FLORAL E COMPORTAMENTO DE
COLETA DE RECURSO FLORAL NA POLINIZAÇÃO**

MANOELA SANTANNA

Nível Mestrado

**São Leopoldo
2021**

Versão corrigida

MANOELA SANTANNA

**INTERAÇÃO ENTRE VISITANTES FLORAIS E MIRTILO (*Vaccinium ashei*
Reade): O EFEITO DA VARIAÇÃO DA MORFOLOGIA FLORAL E
COMPORTAMENTO DE COLETA DE RECURSO FLORAL NA
POLINIZAÇÃO**

Artigo apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia da Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS

Orientador: Dr. Marcelo Zagonel de Oliveira

Co-Orientadora: Dr^a Patricia Nunes Silva

São Leopoldo

2021

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

S232i Santanna, Manoela.

Interação entre visitantes florais e mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade): o efeito da variação da morfologia floral e comportamento de coleta de recurso floral na polinização / Manoela Santanna. – 2021.

91 f: il.; 30 cm.

Artigo (mestrado) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Biologia, 2021.

“Orientador: Dr. Marcelo Zagonel de Oliveira

Co-Orientadora: Dr^a Patricia Nunes Silva.”

1. Mirtilo. 2. Abelhas. 3. Polinização. 4. Caracteres florais. I. Título.

CDU 573

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

(Bibliotecária: Amanda Schuster – CRB 10/2517)

AGRADECIMENTOS À CAPES

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Dedico este trabalho aos meus filhos Davi Santanna Vieira e Moisés Vieira Santanna, para dar a eles um bom exemplo, encontrei forças e determinação para seguir em frente, vencer cada obstáculo e nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Patricia Nunes Silva pelo acolhimento, orientação, amizade, incentivo e apoio, sem ela não seria possível realizar este trabalho. Seus ensinamentos e empatia me ajudaram a acreditar em mim e seguir em frente e a não desistir, o que me possibilitou a realização desta dissertação. Seu aceite em orientar-me forneceu forças para que eu seguisse em frente. Com ela aprendi muito, me trouxe uma nova perspectiva e me apresentou um “mundo de abelhas” o qual ela é apaixonada, e que me contagiou desde o início. Sua amizade e empatia foram cruciais nos momentos difíceis, sejam eles profissionais ou pessoais.

Ao Dr. Marcelo Zagonel de Oliveira pelo acolhimento, orientação e amizade, sempre esteve disposto a me ajudar e ensinar, sempre com seu bom humor o que tornou está caminhada mais suave e alegre.

À Dra. Larissa de Oliveira pela oportunidade de eu realizar experimentos no Laboratório de Morfometria Geométrica, pois não mediu esforços para que eu pudesse ter as ferramentas necessárias para realizar os experimentos e pelos conselhos e incentivo durante o processo de mestrado.

Àos responsáveis da FEPAGRO de Veranópolis (RS) Rafael Azanello, por nos receber e conceder o espaço para realizarmos os experimentos, assim como ao Sr. Ilgo proprietário da Granja Santa Inês, Guaíba (RS), por nos conceder o espaço para o estudo.

À FAPESP, pelos recursos concedidos ao projeto.

À minha amiga Jessica Huck obrigada pela amizade e companheirismo, durante este processo mesmo quando longe, te sinto perto, pois você sempre me apoiou. Ao Murillo de Souza pela ajuda nos experimentos em campo.

Aos meus amigos e familiares que sempre acreditaram em mim e me apoiaram e incentivaram em todo este processo.

Aos meus pais Elvia Rogeria e Luiz Henrique Santanna por toda ajuda e incentivo.

Ao meu marido e filhos pelo apoio em todos os momentos, pelo amor incondicional em toda esta caminhada, me senti acolhida, protegida e amada pela minha família, sempre acreditaram em mim e no meu potencial me transmitindo todo o amor que eu precisava o que foi crucial para que eu chegasse até aqui.

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

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	9
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
Polinizadores de mirtilo	15
Polinização por vibração	18
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 1: AVALIAÇÃO DO PAPEL DA MORFOLOGIA FLORAL DE CULTIVARES DE (<i>Vaccinium ashei</i> READE) NA INTERAÇÃO COM SEUS VISITANTES	34
1 INTRODUÇÃO	38
2 MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1 Avaliação da morfologia floral nos diferentes cultivares de mirtilo	43
2.2 Avaliação do número de grãos de pólen no estigma.....	46
2.3 Análises.....	48
3 RESULTADOS	49
3.1 Avaliação da morfologia floral para dados coletados em Veranópolis	49
3.2 Avaliação da morfologia floral para dados coletados em Guaíba	55
3.4 Avaliação do número de grãos de pólen depositados no estigma, para dados coletados de Guaíba.....	61
4 DISCUSSÃO	62
REFERÊNCIAS	1
CAPÍTULO 2: O EFEITO DO COMPORTAMENTO DAS ABELHAS DURANTE A COLETA DE RECURSOS FLORAIS NA POLINIZAÇÃO DE MIRTILO (<i>Vaccinium ashei</i> Reade)	5
1 INTRODUÇÃO	8
2 MATERIAL E MÉTODOS	11

2.1 Observações do comportamento de coleta de recurso floral	13
2.2 Avaliação do número de grãos de pólen no estigma em flores perfuradas e não perfuradas.....	14
2.3 Análises.....	14
3 RESULTADOS	15
3.1 Avaliação do roubo de recurso floral entre as cultivares	15
3.2 Avaliação do número de grãos de pólen em flores (perfuradas e não perfuradas na corola) para cultivares em Veranópolis.....	15
3.3 Avaliação do número de grãos de pólen em flores (perfuradas e não perfuradas na corola) para cultivares em Guaíba	17
4 DISCUSSÃO	18
REFERÊNCIAS	22

INTERAÇÃO ENTRE VISITANTES FLORAIS E MIRTILO (*Vaccinium ashei* Reade): O EFEITO DA VARIAÇÃO DA MORFOLOGIA FLORAL E COMPORTAMENTO DE COLETA DE RECURSO FLORAL NA POLINIZAÇÃO

INTRODUÇÃO GERAL

A maior parte das angiospermas depende de animais polinizadores para se reproduzirem (Ollerton et al., 2011). Embora o grau de dependência varie entre as espécies, mais de um terço das culturas agrícolas no mundo requerem polinização mediada por animais, principalmente por abelhas, para uma produção comercial satisfatória (Klein et al., 2007). Já que o aumento da população é um fator que requer grande produção de alimentos, isso faz com que a demanda por culturas polinizadas por animais cresça e sem eles a produção de alimentos ficaria seriamente comprometida (Chaplin-Kramer et al., 2014; Smith et al., 2015).

A polinização é considerada um serviço ecossistêmico muito importante que pode ser classificado em regulatório, de provisão e cultural. Sendo uma interação ecológica que fornece inúmeros benefícios aos seres humanos (BPBES, 2016; Costanza et al., 2017). Benefícios estes que incluem a manutenção e a variabilidade genética de populações de plantas nativas que sustentam a biodiversidade e as funções ecossistêmicas, considerado um serviço ecossistêmico regulatório. A garantia do fornecimento confiável e diversificado de frutos, sementes, mel, entre outros, é considerado um serviço ecossistêmico de provisão. E a promoção de valores culturais relacionados ao conhecimento tradicional, buscando engajar as comunidades na preservação dos polinizadores e na importância da polinização, através da educação ambiental, desta forma, considerado um serviço ecossistêmico cultural (BPBES, 2016; Costanza et al., 2017).

No Brasil, calcula-se que a polinização relacionada à produção agrícola tem um valor anual de US \$12 bilhões (Giannini et al., 2015; BPBES, 2016). De modo geral, os frutos provenientes de flores polinizadas por insetos têm maior

número de sementes, melhor formato, maior valor nutritivo, ou seja, possuem maior qualidade em vários aspectos (Bommarco et al., 2012; Junqueira et al., 2012; Klatt et al., 2013; Garratt et al., 2014; BPBES, 2016). Desta forma entender o processo de polinização em plantas cultivadas é muito importante, frente ao recente declínio documentado em algumas populações de polinizadores silvestres e manejados (Biesmeijer et al., 2006; Kosior et al., 2007; Cameron et al., 2011). No país, a produção das principais espécies frutíferas de clima temperado é insuficiente para atender a demanda interna, gerando uma crescente necessidade de importação de frutos que poderiam ser produzidos em regiões mais frias do país (Antunes et al., 2008).

O mirtilo é um exemplo disso, é uma espécie frutífera de clima temperado, pertencente à família Ericaceae, subfamília Vaccinoideae, nativo da América do Norte (Estados Unidos e Canadá) (Santos & Raseira, 2002). Apresenta valor nutracêutico, devido ao alto conteúdo de antocianina, sendo, por isso, conhecido como fruto da longevidade (Fachinello, 2008; Witter et al., 2014). Existe um crescente interesse dos consumidores norte-americanos, europeus e asiáticos pelo fruto, o que tem pressionado produtores mundiais tradicionais a aumentarem a sua oferta, surgindo novos países empreendedores, recentemente o Brasil (Raseira & Antunes, 2004; Witter et al., 2014).

As principais cultivares plantadas no Brasil são: Aliceblue, Bluebelle, Bluegem, Briteblue, Climax, Delite, Powderblue, Woodard e pertencem ao grupo Rabbiteye que se adapta a regiões de pouco frio (cerca de 300 horas), um dos grupos mais promissores no país (Witter et al., 2014). Mesmo com o aumento da demanda e interesse no cultivo de mirtilo para o Brasil, há poucos estudos sobre a polinização desta cultura (Silveira & Raseira, 2011; Sezerino et al., 2017). A produção de mirtilo no país ainda se encontra em fase de ascensão e se busca um sistema de produção eficiente para inserir o país no ranking dos grandes produtores mundiais (Fachinello, 2008).

A introdução de novas espécies e cultivares no Sul do Brasil, em especial no Rio Grande do Sul, vem crescendo em área cultivada e conseqüentemente em importância econômica (Antunes & Raseira, 2006). Embora não existam estatísticas oficiais que relatam dados da área plantada, produção e consumo estima-se que a área plantada no Brasil seja superior a 150 hectares e a

destinação a exportação, sendo parte absorvida no mercado interno (Pagot, 2006; Silva, 2007; Fachinello, 2008).

O Rio Grande do Sul é o Estado que mais se destaca na produção de mirtilo, com 45 produtores rurais, ocupando uma área de 65 ha com produção de 150 toneladas (Fachinello, 2008). Mas para que a produção comercial de mirtilos seja satisfatória, é necessário que, pelo menos, 80% das flores frutifiquem e que estejam presentes insetos polinizadores, uma vez que, pelo formato da flor, o pólen cai para fora da mesma e não no estigma, pois a corola das flores é gomilosa e deprimida, isto é, as pétalas das flores estão soldadas entre si formando uma campânula invertida com uma abertura pequena, o que protege os estames do vento, evitando que o pólen caia sobre o seu próprio estigma, diminuindo assim as chances de autofecundação (McGregor, 1976; Raseira & Antunes, 2004; Raseira, 2004; Desjardins & Oliveira, 2006; Fonseca & Oliveira, 2007; Sezerino et al., 2017).

Estudos demonstram que as abelhas possuem papel fundamental na polinização (Sezerino, 2007; Sezerino, 2010; BPBES, 2016; Sezerino et al., 2017). Sem polinização cruzada mediada por abelhas, 96% das flores de mirtilo do grupo Rabbiteye não resultam em frutos (Sampson & Cane, 2000; Sezerino et al., 2017). Desta forma, conhecer a biologia da planta, associado aos fatores bióticos que com ela interagem são aspectos chave para otimizar o rendimento de frutos em um pomar comercial (Sezerino et al., 2017).

No caso do mirtilo do grupo Rabbiteye, do qual faz parte a espécie alvo deste estudo *Vaccinium ashei* Reade, existe algum grau de incompatibilidade do seu próprio pólen, o que varia entre as cultivares (Santos & Raseira, 2002; Raseira & Antunes, 2004; Sezerino, 2010). Mesmo cultivares que são autocompatíveis apresentam reduzida frutificação efetiva e menor qualidade dos frutos quando as flores são autopolinizadas comparativamente à polinização cruzada (El-Agamy et al., 1981; Gupton & Spiers, 1994; Ehlenfeldt, 2001; Witter et al., 2014; Sezerino et al., 2017). Além deste problema que dificulta a polinização, a própria morfologia da flor do mirtilo é conhecida por afetar a taxa de visitantes potenciais polinizadores, o que pode diminuir as visitas dos mesmos as flores, pois características da morfologia podem ser um fator impactante para polinização (Wilson et al., 2004; Kudo & Harder, 2005; Martén-Rodríguez et al., 2009; Courcelles et al., 2013).

Outra característica das flores de mirtilo é que elas possuem anteras poricidas, que necessitam de polinização por vibração para liberar maior quantidade de pólen portanto, são menos capazes de autopolinização passiva do que outras morfologias florais (Courcelles et al., 2013; Sezerino et al., 2017; Bobiwash et al., 2018). Quando abelhas coletoras de pólen que não possuem o comportamento de vibrar os músculos do tórax, o retiram da antera poricida, elas tendem a fazer isso de maneira ineficiente, batendo nas anteras com as pernas removendo pouco pólen (Cane et al., 1993).

A variação da forma da flor entre os cultivares acaba impondo limitações ao acesso às recompensas florais, o que acaba encorajando o comportamento de roubo de néctar através de perfurações na corola, realizados por algumas espécies de abelhas (Irwin et al., 2010; Courcelles et al., 2013). Pois estas limitações impedem muitas vezes a deposição do mesmo no estigma, além disso, o nectário encontra-se na base do estilete e para alcançá-los, a abelha deve inserir sua língua entre os filamentos (Javorek et al., 2002). Dependendo da morfologia da flor, conseqüentemente estes fatores podem interferir na polinização efetiva nas flores de mirtilo (Courcelles et al., 2013; Witter et al., 2014;).

Desta forma a morfologia floral deve ser considerada nas iniciativas de melhoramento de culturas de mirtilo no Brasil, selecionando formas florais menos limitantes (Courcelles et al., 2013). Nosso objetivo geral foi avaliar a interação do visitante com as flores de mirtilo e verificar se existe variação na morfologia floral entre os cultivares de *V. ashei* e se este for o caso, qual sua influência na polinização. E a partir dos resultados incrementar o conhecimento sobre a polinização do mirtilo no Brasil, considerando os aspectos da morfologia floral importantes para polinização desta cultura.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A família Ericaceae é formada por 124 gêneros com 4.100 espécies, distribuídas principalmente nas regiões temperadas e tropicais sua distribuição é considerada cosmopolita (Souza & Lorenzi, 2012). Algumas destas espécies possuem alto valor econômico/alimentício, como por exemplo o mirtilo (*V. ashei* Reade) (Joly, 1998).

O mirtilo é uma planta que apresenta uma grande importância econômica, especialmente nos Estados Unidos e Europa, centros de diversidade do gênero *Vaccinium* (Westwood, 1982). Nestas regiões é amplamente cultivado e tem importância comercial significativa, além de estar havendo uma ampla divulgação das propriedades dos frutos como "fonte da longevidade", sendo rico em fibras, minerais e vitaminas, destacando-se por sua alta concentração de vitamina C. Possuem também propriedades antioxidantes que evitam os danos causados pelos radicais livres, sendo assim, importantes na prevenção de câncer e enfermidades coronárias. (Kalt et al., 2007).

Entre 1998 e 2011 a produção mundial de mirtilos aumentou significativamente, de 143.704 para 467.048 toneladas (Brazelton, 2013; Cantuarias-Avilés et al., 2014; FAO, 2020), devido ao maior consumo de mirtilos no Hemisfério Norte, impulsionado pela crescente demanda de alimentos com alto valor nutritivo e nutracêutico (Cantuarias-Avilés et al., 2014). Os primeiros experimentos para a implantação e melhoramento do mirtilo no Brasil datam de 1983, pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS), que introduziu uma coleção de cultivares oriundas da Universidade da Flórida, sendo que o plantio comercial iniciou em 1990 na cidade de Vacaria (RS) (Sezerino, 2010). A espécie introduzida foi *V. ashei*, com o objetivo de avaliar a adaptação desta às condições edafoclimáticas da região (Antunes & Madail, 2007). Apesar de introduzido na década de 80 no país, os primeiros pomares de mirtilo com fins comerciais são recentes e motivados pela alta demanda e preços atrativos (Santos & Raseira, 2002).

Foi introduzido no país cultivares de baixa exigência em frio, variedades do grupo Rabbiteye, conhecido como "olho de coelho", oriundas da Universidade da Flórida (Estados Unidos) (Antunes & Raseira, 2006). O quadro produtivo atual, no país, está estimado em cerca de 150 toneladas, concentradas nas

idades de Vacaria, Caxias do Sul e Pelotas (RS), Bom Retiro (SC), Barbacena (MG) e Campos do Jordão (SP). No Estado, a região de Vacaria é a pioneira no cultivo desta fruta (Antunes & Raseira, 2006, Sezerino, 2010). As plantações, na maioria das vezes, são menores que dois hectares e grande parte dos tratamentos culturais é realizada pelos membros da família do produtor (Pasetto, 2007).

A floração do mirtilo ocorre no final de agosto e início de setembro (Raseira, 2004; Antunes et al., 2008). O grupo Rabbiteye é composto por nove cultivares (variedades, geneticamente modificadas a partir da espécie alvo, a fim de, selecionar os melhores fenótipos para o cultivo): Aliceblue, Bluebelle, Britteblue, Bluegem, Clímax, Delite, Florida, Powderblue, Woodard, a maioria apresenta algum grau de incompatibilidade do seu próprio pólen, o que varia entre as cultivares, necessitando de polinizadores para aumentar a taxa de frutificação (Santos & Raseira, 2002; Raseira & Antunes, 2004; Antunes & Raseira, 2006; Sezerino, 2010).

Martin et al. (2020) observaram em seu estudo que a exclusão total de polinizadores, ou seja, quando as flores de mirtilo são autofecundadas, os frutos obtidos são menores e apresentam maturação tardia, quando comparados com frutos obtidos de polinização cruzada mediada pelos polinizadores. O que reforça a nossa compreensão da importância de polinização cruzada neste tipo de cultivo, na ausência de polinizadores a autopolinização pode ser ineficaz para produção comercial satisfatória.

Polinizadores de mirtilo

A polinização mediada por animais é um serviço ecossistêmico essencial e altamente valorizado (Gallai et al., 2009), com muitas culturas dependendo dos polinizadores para frutificar (Klein et al., 2007; Martin et al., 2020). A produção de frutos de mirtilos de alta qualidade depende muito das contribuições dos polinizadores (Aras et al., 1996; Mackenzie, 1997; Dogterom et al., 2000; Fulton et al., 2015; Martin et al., 2020). Isso resulta parcialmente de características morfológicas da planta, onde o pólen nas flores de mirtilo fica oculto dentro de anteras poricidas, tornando a transferência de pólen eficaz dentro e entre as flores limitado para muitos polinizadores, o que dificulta alcançar a produção satisfatória para esta cultura (Martin et al., 2020). Por exemplo, Campbell et al. (2018) descobriram que os frutos de mirtilo possuem 47% mais peso quando as flores foram acessadas pelos polinizadores (incluindo *Apis mellifera* Linnaeus, 1758; *Bombus* spp., *Habropoda laboriosa* Fabricius, 1804 e *Xylocopa* spp.) comparado a ausência de polinizadores. Outros estudos revelaram que os polinizadores mais eficazes de mirtilos são geralmente as abelhas capazes de vibrar os músculos do tórax, (Mackenzie & Eickwort, 1996; Stubbs & Drummond, 2001; Javorek et al., 2002; Tuell et al., 2009; Campbell et al., 2017; Campbell et al., 2018), pois são capazes de extrair pólen de anteras vibrando seus corpos em alta frequência (ou seja, polinização por vibração). Isso faz com que o pólen saia das anteras através dos poros (Cane & Payne, 1993).

Javorek et al. (2002) compararam espécies de abelhas forrageadoras de pólen como *Bombus* spp. e *Andrena* spp. com espécies que frequentemente coletam néctar, como *A. mellifera*, considerando o número de flores polinizadas por minuto. Observaram que as abelhas forrageadoras de pólen depositaram três vezes a quantidade de pólen nas flores de mirtilo durante uma única visita quando comparadas com *A. mellifera*. Os resultados de seu estudo mostram que *Andrena* spp. e *Bombus* spp. são as abelhas mais eficazes, depositando, em média, 45 tétrades por visita.

Outros estudos consideram que em grande número as abelhas *A. mellifera* podem realizar a polinização eficaz de flores de mirtilo, ou seja, um aumento na quantidade de colônias dessa espécie introduzidas no cultivo pode resultar em aumento das taxas de visitação das flores (Isaacs & Kirk, 2010; Gibbs

et al., 2016; Martin et al., 2020). Isso pode explicar por que muitos produtores comerciais de mirtilo dependem total ou parcialmente das abelhas *A. melliferas* como polinizadores (Martin et al., 2020). Mesmo na presença de abelhas nativas, os fazendeiros de mirtilo norte-americanos normalmente adicionam colmeias de abelhas *A. mellifera* para complementar a polinização das abelhas *Bombus* spp. (Lang & Danka, 1991; Aras et al., 1996; Isaacs & Kirk, 2010; Fulton et al., 2015; Gibbs et al., 2016).

A eficácia potencial das abelhas *A. melliferas* também foi demonstrada em um artigo recente de Hoffmann et al. (2018) que constataram que elas transportam quantidades substanciais de pólen de mirtilo e frequentemente entram em contato com estigmas e anteras, ocasionalmente quando colocam suas pernas dianteiras dentro da abertura da corola enquanto se alimentam. Desta forma elas podem pegar pólen das anteras ou das paredes internas da corola, pois 13% do total de tétrades do tarso estavam presentes nos tarsos da perna dianteira. Um único contato com uma parte do corpo carregada de pólen tem a possibilidade de transferir o suficiente ao estigma para uma polinização eficaz.

Mesmo com um aumento de pesquisas para estimar os polinizadores de mirtilo, faltam estudos para a maioria de suas cultivares, e, portanto, os requisitos de polinização são mal compreendidos para muitas delas (Lang & Danka 1991; Dogterom et al., 2000). As espécies de insetos que polinizam mirtilos variam de acordo com a época de floração e a localização (Gibbs et al., 2016).

Para o Brasil o cenário não é muito diferente, embora alguns estudos importantes tenham estimado os polinizadores de mirtilo, ainda existe uma lacuna no conhecimento da eficiência de polinizadores em diferentes regiões, principalmente no que se refere às abelhas nativas. É observado uma baixa abundância de polinizadores nativos nas áreas de estudo (Sezerino et al., 2017).

No Sul do Brasil, Sezerino (2007, 2017) e Silveira (2008) observaram que os visitantes florais mais frequentes foram as abelhas *A. mellifera*, e as abelhas nativas dos gêneros *Plebeia*, *Bombus*, *Xylocopa*, *Trigona* e da família Halictidae, e as vespas das famílias Vespidae e Scoliidae.

Em estudos realizados no Rio Grande do Sul, observou-se que os visitantes florais de mirtilo foram *Bombus pauloensis* Friese (1913); *B. morio* Swederus (1787); *Xylocopa hirsutissima* Maidl, 1912; *X. subcianea* Pérez, 1901;

A. mellifera, *T. spinipes* e as vespas *Bachygastra*, *lecheguana* e *Polybia* sp. Enquanto que 55,5% de pólen do corpo das mamangavas (*Bombus*) eram de mirtilo, somente 14,3% do pólen da corbícula de *A. mellifera* eram dessa cultura (Silveira, 2008; Silveira et al., 2011).

Observando estes dados em conjunto com o comportamento de vibração torna as abelhas dos gêneros *Bombus*, *Xylocopa* e da família Halictidae as mais eficientes polinizadoras das flores de mirtilo, tendo *A. mellifera* um papel de polinizador complementar (Silveira et al., 2011; Witter et al., 2014). Mas de maneira geral a visita das abelhas nas flores de mirtilo são muito importantes para transportar os grãos de pólen para os estigmas receptivos, até mesmo em cultivares autoférteis (Witter et al., 2014). Desta forma todos os tipos de mirtilo beneficiam-se da polinização cruzada mediada pelos polinizadores (Witter et al., 2014; Sezerino et al., 2017).

Polinização por vibração

A polinização por vibração é um mecanismo de polinização no qual as abelhas usam vibrações para extrair o pólen das flores. Este comportamento de vibração que algumas abelhas exibem nas flores para extrair o pólen também foi chamado de sonicação ou zumbido devido ao som característico que as vibrações produzem (Vallejo-Marín, 2019; Pritchard & Vallejo-Marín, 2020).

A polinização por vibração é relativamente comum, em flores que possuem morfologia especializada que requer deste tipo de polinização, cerca de 20.000 espécies de plantas com flores possuem esta característica (De Luca & Vallejo-Marín, 2013), incluindo espécies de culturas economicamente importantes, como tomates, batatas e kiwis, enquanto a vibração das flores foi observado em 74 gêneros compreendendo cerca de 58% das espécies de abelhas (Pritchard & Vallejo-Marín, 2020). Durante esse tipo de coleta de pólen, as abelhas usam sua musculatura torácica para vibrar as anteras e liberar o pólen (Buchmann & Hurley 1978; Nunes-Silva et al., 2010). O significado funcional não é óbvio, o mecanismo de polinização por vibração permanece indefinido e os papéis relativos dos componentes da vibração como frequência, velocidade, deslocamento e aceleração não estão claros (King & Buchmann, 1996; Corbet et al., 2014; Vallejo-Marín, 2019).

Em flores de anteras poricidas (Fig. 1), primeiramente, as abelhas pousam sobre as anteras da flor, curvam-se em volta ou no ápice do cone de anteras e agarram fortemente os estames (Fig. 2) (Nunes-Silva et al., 2010; Vallejo-Marín, 2019). Ao contrair seus músculos torácicos, vibrações são transmitidas para as anteras através do tórax e das pernas, causando ressonância dentro dela e liberando o pólen (Fig. 2) (Buchmann & Hurley, 1978 citado por Nunes-Silva et al., 2010; Vallejo-Marín, 2019). As vibrações resultantes são transmitidas nas anteras através da cabeça, mandíbulas e lado ventral do abdômen (King, 1993; King, 2003; De Luca & Vallejo-Marín, 2013). As vibrações ressoam nas anteras, fazendo com que os grãos de pólen ganhem energia e sejam expelidos pelos poros apicais (De Luca & Vallejo-Marín, 2013). O pólen expelido se adere no corpo do polinizador, talvez sendo atraído por forças eletrostáticas (Buchmann, 1978; De Luca & Vallejo-Marín, 2013).

Harder & Barclay (1994) citados por Nunes-Silva et al. (2010) sugerem que as anteras porcidas apresentam mecanismos de liberação de pólen que restringem a retirada de todos os grãos em uma única visita e isso faz com que seja liberada somente uma pequena porcentagem, liberando-o continuamente durante um período de tempo. Dessa maneira, esse mecanismo garante a visita de vários polinizadores, promovendo maior sucesso na dispersão do pólen (Nunes-Silva et al., 2010).

Segundo De Luca & Vallejo-Marín (2013) em abelhas o comportamento de vibração só foi relatado em fêmeas, que usam o pólen coletado para alimentar larvas em desenvolvimento (Buchmann, 1983) e se as abelhas machos também realizam polinização por vibração é atualmente desconhecido. Os comportamentos exibidos pelas abelhas que vibram são bastante estereotipados (Macior, 1964; Buchmann, 1983).

As vibrações produzidas nas flores não são exatamente as mesmas produzidas durante o voo. Durante a vibração nas flores, as abelhas vibram seu tórax em frequências e amplitudes mais altas do que durante o voo (Pritchard & Vallejo-Marín, 2020).

Essas vibrações de frequência mais altas parecem ser parcialmente devido às asas sendo dobradas sobre o abdômen, reduzindo o efeito de arrasto e inércia nas vibrações, e parcialmente devido às diferenças no padrão dos impulsos neurais enviados aos músculos. As propriedades das vibrações florais, portanto, dependem tanto do sistema nervoso das abelhas quanto da biomecânica do corpo (Pritchard & Vallejo-Marín, 2020). Apenas cerca da metade das espécies de abelhas podem vibrar nas flores, incluindo desde grandes abelhas carpinteiras a diminutas abelhas sudoríparas (Pritchard & Vallejo-Marín, 2020).

Atualmente não sabemos por que algumas espécies não fazem vibração nas flores. Em um nível mecanicista, algumas abelhas podem não ser capazes de gerar as forças necessárias para liberar o pólen e, portanto, não faz sentido vibrar as flores. As abelhas carpinteiras podem produzir vibrações com acelerações suficientes para liberar pólen das anteras porcidas, mas as abelhas

(*A. mellifera*) não conseguem atingir a aceleração necessária (Pritchard & Vallejo-Marín, 2020).

Ainda não sabemos por que, em um nível evolutivo, as espécies de abelhas diferem nas vibrações que podem produzir (Pritchard & Vallejo-Marín, 2020). Nos últimos anos, ocorreram grandes avanços no estudo da polinização por vibração, no entanto, estão testando experimentalmente teorias evolutivas sobre a evolução e o significado adaptativo da polinização por vibração (Vallejo-Marín, 2019).

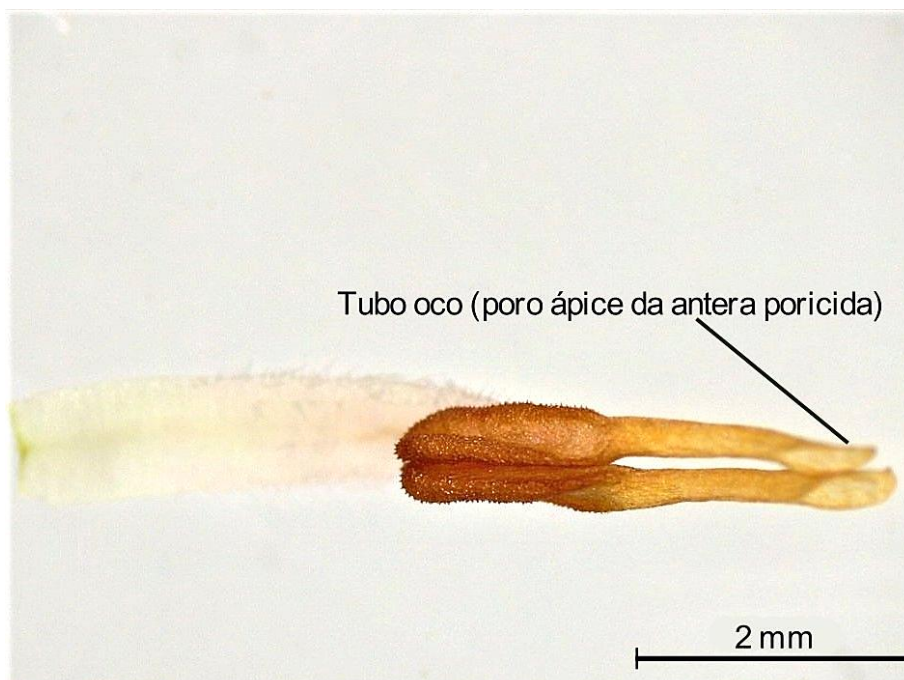


Fig. 1 - Foto da antera poricida de flores de mirtilo, em destaque ápice da antera com abertura por onde o pólen é liberado.

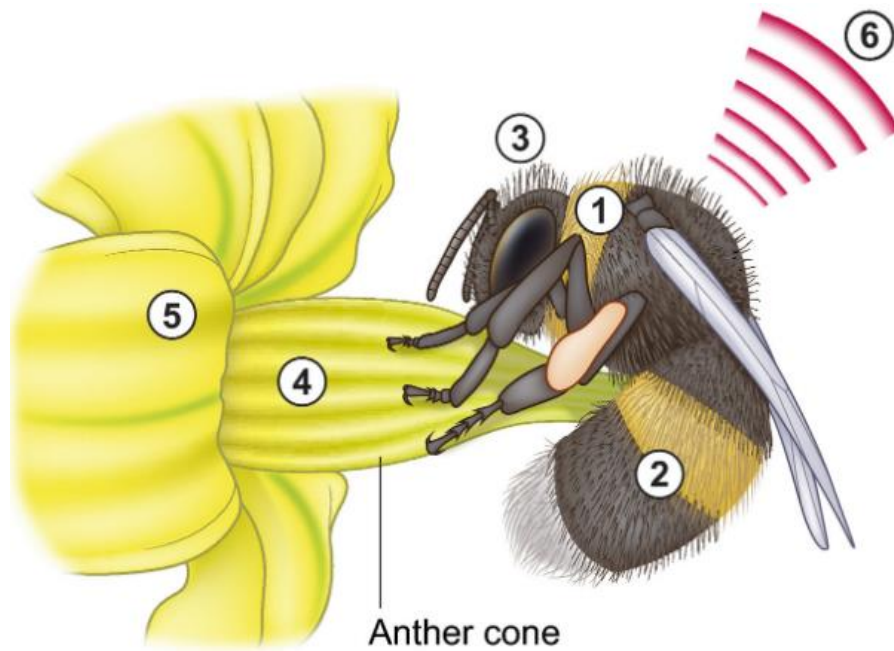


Fig. 2 - Vibrações produzidas por uma abelha visitando uma flor polinizada por vibração. Imagem de uma abelha vibrando o cone de antera (em amarelo) de uma flor semelhante a *Solanum* com anteras poricidas. Os músculos de voo indireto causam deformação cíclica do tórax da abelha que resulta em vibrações (1). Essas vibrações são transmitidas ao cone da antera (4) por contato direto com o tórax, cabeça, abdômen e, em menor intensidade, as pernas (1–3). As vibrações também são transmitidas a outras partes da flor, incluindo as pétalas e sépalas (5). A abelha vibrante também transfere energia para o ar circundante que resulta em um componente audível (som; 6). Embora esse som seja o que dá nome a esse comportamento (ou seja, sonicação ou polinização por zumbido), a contribuição do componente acústico para o tremor das

antras é desprezível. O pólen é expelido das antras através das vibrações e se adere às abelhas. *Nota:* Modificado de Vallejo-Marín, 2019.

REFERÊNCIAS

Antunes, L. E. C., Gonçalves, E. D., Ristow N. C. et al. (2008). Fenologia, produção e qualidade de frutos de mirtilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43,1011–1015. DOI: 10.1590/S0100-204X2008000800009

Antunes, L. E. C., Madail, J. C. M. (2007). Mirtilo: uma oportunidade de negócios. Disponível:http://www.todofruta.com.br/todafruta/mostra_conteúdo.asp?conteúdo=15206 Acesso em: 20 nov. 2020.

Antunes, L. E. C., Raseira, M. C. B. (2006). Cultivo do mirtilo (*Vaccinium* spp.). Pelotas: *Embrapa Clima Temperado Sistema de Produção* 8, 99. Disponível em: [https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca=autoria:"RASEIRA, M. do C. B. \(Ed.\)](https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca=autoria:)." Acesso em: 10 set. 2020.

Aras, P., Oliveira, D., Savoie, I. (1996). Effect of a Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Gradient on the pollination and Yield of Lowbush Blueberry. *Journal of Economic Entomology*, 89, 1080–1083. DOI: 10.1093/jee/89.5.1080

Bobiwash, K., Uriel, Y. and Elle, E., (2018) Pollen foraging differences among three managed pollinators in the highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) agroecosystem. *J. Econ. Entomol.* 111 , 26–32.

BPBES (2016). Relatório Temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil. Disponível em: www.bpb.es.net.br

Brazelton, C. (2013). World blueberry acreage & production. *World Blueberry Acreage & Production Report*, 77. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org>. Acesso em: 01 dez. 2020.

Bommarco, R., Marini, L., Vaissière, B. E. (2012). Insect pollination enhances seed yield, quality, and market value in oilseed rape. *Oecologia*, 169, 1025–1032. DOI: 10.1007/s00442-012-2271-6

Biesmeijer, J. C. et al. (2006). Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313, 351-354. DOI: /10.1126/science.1129551

Buchmann, S. L. (1985). Bees use vibration to aid pollen collection from non-poricidal flowers. *J Kansas Entomol Soc*, 58, 517-525.

Buchmann, S. L. (1983). Buzz pollination in angiosperms. *Van Nostrand Reinhold Company, New York*, 73–113.

Buchmann, S. L., Hurley, J. P. (1978). Biophysical model for buzz pollination in Angiosperms. *J Theor Biol*, 72, 639-65. DOI: 10.1016 / 0022-5193 (78) 90277-1

Campbell, J.W., Kimmel, C. B., Bammer, M., et al. (2018). Managed and Wild Bee Flower Visitors and their potential contribution to low-cold blueberry pollination services (*Vaccinium corymbosum* L.), Ericales: Ericaceae), *Journal of Economic Entomology*, 111 2011–2016. DOI: 10.1093/jee/toy215

Campbell, J. W., O'Brien, J. H., Irvin, C. B., et al. (2017). Managed bumble-bees (*Bombus impatiens*) (Hymenoptera: Apidae) caged with blueberry bushes at high density did not increase fruit set or fruit weight compared to open pollination. *Environ. Entomol*, 46, 237–242. DOI: 10.1093/ee/nvx044

Costanza, R., De Groot, R., Braat, L. et al. (2017) Twenty years of ecosystem services: How far have we come and how far do we still need to go? *Ecosyst Serv.*, 28, 1–16. DOI: 10.1016/j.ecoser.2017.09.008

Chaplin-Kramer, R., Dombeck, E., Gerber, J. et al. (2014). Global malnutrition overlaps with pollinator-dependent micronutrient production. *Proc R Soc B*, 281, 20141799. DOI: 10.1098/rspb.2014.1799

Corbet, S. A., Huang, S. Q. (2014). Buzz pollination in eight bumblebee-pollinated *Pedicularis* species: does it involve vibration-induced triboelectric charging of pollen grains? *Annals of Botany*, 114, 1665–1674. DOI: 10.1093 / aob / mcu195

Courcelles, D. M., Button, M. L. & Elle, E. (2013) Bee visit rates vary with floral morphology among highbush blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal Applied Entomology*, 137, 693-701. DOI: 10.1111/jen.12059

Cameron, S. A., Lozier, J. D., Strange, et al. (2011). Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *Proc. Natl. Acad. Science USA*, 108, 662–7. DOI: 10.1073/pnas.1014743108

Cantuarias-Avilés, T. (2010). Cultivo do mirtilheiro (*Vaccinium* sp.). Piracicaba: ESALQ, Série Produtor Rural 48, 38. DOI: 10.1590/0100-2945-453/13

Cane, J. H. & Payne J. A. (1993). Regional, annual, and seasonal variation in pollinator guilds: intrinsic traits of bees (Hymenoptera: Apoidea) underlie their patterns of abundance at *Vaccinium ashei* (Ericaceae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 86, 577–588.

Cane, J., McKenzie, K., Schiffhauer, D. (1993). Honey-bees harvest pollen from porose anthers of cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) (Ericaceae). *Am. Bee J*, 134, 293–295.

De Luca, P. A., & Vallejo-Marín, M. (2013). What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Current Opinion in Plant Biology*, 16, 429–435. DOI: 10.1016/j.pbi.2013.05.002

Desjardins, E. C., Olivereira, D.D. (2006). Commercial bumble-bee *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) as a pollinator in lowbush blueberry (Ericales: Ericaceae) fields. *J. Econ. Entomol.*, 99, 443–449. DOI: 10.1603 / 0022-0493-99.2.443

Dogterom, M. H., Winston, M. L. & Mukai, A. (2000). Effect of pollen load size and source (self, outcross) on seed and fruit production in highbush blueberry cv. 'Bluecrop' (*Vaccinium corymbosum*; Ericaceae). *Am. J. Bot.*, 87, 1584–1591.

Ehlenfeldt, M.K. (2001). Self- and cross-fertility in recently released highbush blueberry cultivars. *HortScience*, 36, 133–135.

El-Agamy, S. Z. A., Sherman, W. B., Lyrene, P. M. (1981). Fruit set and seed number from self-and cross-pollinated highbush (4x) and rabbiteye (6x) blueberries. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 106, 443-445.

FAO. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/pt/>. Acesso em: 20 out. 2020.

Fulton, M., Jesson, L. K., Bobiwash, K., Schoen, D.J. (2015). Mitigation of pollen limitation in the lowbush blueberry agroecosystem: effect of augmenting natural pollinators. *Ecosphere*, 6, 1-19.

Fachinello, J. C. (2008). Mirtilo. *Revista Brasileira Fruticultura*, 30, 285–576. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/250035301_Mirtilo

Fonseca, L. L., Oliveira, B, P. (2007). A planta de mirtilo: Morfologia e fisiologia. *Divulgação Agro* 556, 2, 17-18.

Freitas, B.M. (2006). Uso de programas racionais de polinização em áreas agrícolas. Disponível em: www.infoteca.cnptia.embrapa.br. Acesso em: 13 out. 2020.

Gibbs, J., Elle, E., Bobiwash, K., Haapalainen, T. & Isaacs, R. (2016). Contrasting pollinators and pollination in native and non-native regions of highbush blueberry production. *Plos One*, 11, e0158937. DOI: 10.1371/journal.pone.0158937

Giannini, T. C., Boff, S., Cordeiro, G. D. et al. (2015). Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie*, 46, 209–223. DOI: 10.1007/s13592-014-0316-z

Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347, 1255957. DOI: 10.1126 / science.1255957

Garratt, M. P. D., Breeze, T. D., Jenner, N. et al. (2014) Avoiding a bad apple: insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agric Ecosyst Environ*, 184, 34–40. DOI: 10.1016/j.agee.2013.10.032

Gallai, N. et al. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68, 810-821. DOI: 10.1016/j.ecolecon.2008.06.014

Gupton, C. L. & Spiers, J. M. (1994). Interspecific and intraspecific pollination effects in rabbiteye and southern highbush blueberry. *HortScience*, 29, 324 -326.

Hoffman, G. D., Lande, C., Rao, S. (2018). A Novel Pollen Transfer Mechanism by Honey Bee Foragers on Highbush Blueberry (Ericales: Ericaceae), *Environmental Entomology*, 47, 1465–1470. DOI: 10.1093/ee/nvy162

Harder, L. D., Barclay, M. R. (1994). The functional significance of poricidal anthers and buzz pollination: controlled pollen removal from *Dodecatheon*. *Functional Ecology*, 8, 509-517.

Irwin, R. E., Bronstein, J. L., Manson, J. S. et al. (2010). Nectar robbing: ecological and evolutionary perspectives. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 41, 271–292.

Isaacs, R., & Kirk, A. (2010). Pollination services provided to small and large highbush blueberry fields by wild and managed bees. *J. Appl. Ecol.*, 47, 841- 849. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2010.01823.x

Junqueira, C. N., Hogendoorn, K., Augusto, S. C. (2012) The use of trap-nests to manage carpenter bees (Hymenoptera: Apidae: Xylocopini), pollinators of

passion fruit (Passifloraceae: *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Ann Entomol Soc Am.*, 105, 884–889.

Javorek, S. K., Mackenzie, K. E. & Vander-Kloet S. P. (2002). Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on lowbush blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 95, 345–351.

Joly, A. B. (1998). Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. *Companhia Editora Nacional*, 4. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>

Koh, I., Lonsdorf, E. V., Williams, N. M., Brittain, C., Isaacs, R., Gibbs, J. & Ricketts, T. H. (2016). Modeling the status, trends, and impacts of wild bee abundance in the United States. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 113, 140–145.

Klatt, B. K., Holzschuh, A., Westphal, C. et al. (2013). Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proc R Soc B Biol Science*, 281, 20132440–20132440. DOI: 10.1080/00218839.1993.11101286

Kalt, W., Joseph, J.A., Shukitt-Hale, B. (2007). Blueberries and human health: a review of current research. *Journal of the American Pomological Society*, 61, 151-160.

Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J.H. et al (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R Soc. B.*, 274, 303–313. DOI:10.1098/rspb.2006.3721

Kosior, A., Celary, W., Olejniczak, P., Fijał, J., Krol, W., Solarz, W., Plonka P. (2007). The decline of the bumble-bees and cuckoo bees (Hymenoptera: Apidae: Bombini) of Western and Central Europe. *Oryx*, 41, 79–88. DOI: 10.1073 / pnas.1517685113

Kudo, G., Harder, L. D. (2005). Floral and inflorescence effects on variation in pollen removal and seed production among six legume species. *Funct. Ecol.* 19, 245–254.

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. *J. Kansas Entomol. Soc.* 76, 295–305

King, M. J., Buchmann, S. L. (1996). Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology*, 10, 449-456. DOI: 10.2307/2389937

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

Lang, G. A. & Danka, R. G. (1991). Honey-bee-mediated cross- versus self-pollination of 'Sharpblue' blueberry increases fruit size and hastens ripening. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 116, 770–773.

Martin, K., Anderson, B., Minnaar C., et al. (2020). Honey-bees are important pollinators of South African blueberries despite their inability to sonicate South African. *Journal of Botany*, 137, 46-51. DOI: 10.1016/j.sajb.2020.09.030

Martén-Rodríguez S., Almarales-Castro A., Fenster C. (2009). Evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *J. Ecol.* 97, 348–359. DOI: 10.1111/j.1365-2745.2008.01465.x

Malagodi-Braga, K., Peixoto, S., Kleinert, A. D. M. (2004). Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses? *Aust J Agric Res*, 55, 771–773.

MacKenzie, K. E. (1997). Pollination requirements of three highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 122, 891–896.

Mackenzie, K. E., Eickwort, G. C. (1996). Diversity and abundance of bees (Hymenoptera: Apoidea) foraging on highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in central New York. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 69, 185-194.

McGregor, S. E. (1976). Insect pollination of cultivated crop-plants. U.S.D.A. Agriculture Handbook, 496, 93-98.

Martin, E. C., McGregor, S. E. (1973). Changing trends in insect pollination of commercial crops. *Annu. Rev. Entomol.* 18, 207-226.

Macior, L. W., (1964). Experimental study of floral ecology of *Dodecatheon meadia*. *American Journal of Botany*, 51, 96-108.

Michener, C. D. (1962). An interesting method of pollen collecting by bees from flowers with tubular anthers. *Revista De Biologia Tropical*, 10, 167–175.

Nunes-Silva, P., Hrnčir, M., Imperatriz-Fonseca, V. L. (2010). A polinização por vibração. *Oecologia*, 14, 140–151. DOI:10.4257/oeco.2010.1401.07

Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120, 321–326. DOI: 10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x

Pritchard, D.J. & Vallejo-Marin, M. (2020). Buzz pollination, 30, 841-870. DOI: org/10.1016/j.cub.2020.05.087

Rech, A. R., Westerkamp, C. (2014). Biologia da polinização: uma síntese histórica. In: Rech A. R., Agostini, K., Oliveira, P. E., Machado, I. C. Projeto Cultural, 27–43.

Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C. et al. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol Evol*, 25, 345–353.

Pasetto, R. C. R. (2007). Experiência da cooperativa Sanjo na produção de mirtilo. In: Hoffmann, A., Sebben, S.S., IV Seminário brasileiro sobre pequenas frutas. Bento Gonçalves. Embrapa Uva e Vinho, 49-50. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1011522/1/anaispequenasfrutaspalestras2013.pdf>

Pagot, E. (2006). Cultivo de pequenas frutas: amora-preta, framboesa, mirtilo. Porto Alegre: *EMATER/RS-ASCAR*, 31-41.

Raseira, M. B. C., Antunes, L. E. C. (2004). A Cultura do mirtilo. (Documentos, 121) Pelotas: *Embrapa Clima Temperado*.

Raseira, M. C. B. (2004). A cultura do mirtilo. Pelotas, *Embrapa Clima Temperado*, 67.

Sezerino, A. A., Orth A. I., Petri, J. L. et al. (2017). Polinização do mirtilo no Oeste de SC. *Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa – Congrega*, 14, 1–14.

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. *Lancet*, 386, 1964–1972.

Souza, V. C. & Lorenzi, H. (2012). *Botânica Sistemática: guia ilustrativo para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil*. Nova Odessa, São Paulo, Instituto Plantarum.

Silveira, T. M. T., Raseira, M. C. B., Bassols, M. C., et al. (2011). Blueberry pollination in southern Brazil and their influence on fruit quality. *Revista Brasileira Fruticultura*, .33, 081-088.

Sezerino, A. A. (2010). Ecologia da polinização do mirtilo (*Vaccinium ashei* Read cvs Climax e Powderblue) no município de Bom Retiro, Santa Catarina, Mestrado

– Centro de Ciências Agrárias, Pós-graduação em Recursos Genéticos, Universidade Federal de Santa Catarina, 43.

Silva, P. R. (2007). Mercado e comercialização de pequenas frutas. In: Hoffmann, A., Sebben, S.S. IV Seminário brasileiro sobre pequenas frutas. Bento Gonçalves. Embrapa Uva e Vinho, 45-48.

Sezerino, A. A. (2007). Polinização do mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) (Ericaceae) cultivares Misty e O'neal no município de Itá, Oeste de SC. Trabalho (Conclusão de Curso) – Curso de Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 43.

Santos, A. M., Raseira, M. C. B. (2002). O cultivo do mirtilo. (Documento 96) Pelotas. Embrapa Clima Temperado, 17.

Stubbs, C. S., Drummond, F. A. (2001). *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae): An alternative to *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) for lowbush blueberry pollination *J. Econ. Entomol.*, 94, 609-616.

Sampson, B. J., & Cane, J. H. (2000). Pollination efficiencies of three bee (Hymenoptera: Apoidea) species visiting rabbiteye blueberry. *J. Econ. Entomol.*, 93, 1726–1731. DOI: 10.1603 / 0022-0493-93.6.1726

Tuell, J. K., John, S., Isaacs, A. R. (2009). Wild Bees (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila) of the Michigan Highbush Blueberry Agroecosystem, *Annals of the Entomological Society of America*, 102, 275– 287.

Vallejo-Marín, M. (2019). Buzz pollination: studying bee vibrations on flowers. *New Phytologist*, 224, 1068–1074. DOI: 10.1111/nph.15666

Witter, S., Nunes-Silva, P., Blochtein, B. et al. (2014). As abelhas e a agricultura. EDIPUCRS, Porto Alegre. Disponível em: <https://editora.pucrs.br/edipucrs/acessolivre/Ebooks>

Wilson, P., Castellanos, M., Hogue, J., Thomson, J., Armbruster, W. (2004). A multivariate search for pollination syndromes among Penstemons. *Oikos* 104, 345–361.

Westwood, M. N. (1982). *Fruticultura de zonas templadas*. Madrid: Mundi Prensa.



CAPÍTULO 1: AVALIAÇÃO DO PAPEL DA MORFOLOGIA FLORAL DE CULTIVARES DE (*Vaccinium ashei* READE) NA INTERAÇÃO COM SEUS VISITANTES

A formatação segue regras de submissão do *Journal of Applied Entomology*. Disponível em: <http://mc.manuscriptcentral.com/jappent>

AVALIAÇÃO DO PAPEL DA MORFOLOGIA FLORAL DE CULTIVARES DE *Vaccinium ashei* READE NA INTERAÇÃO COM SEUS VISITANTES FLORAIS

Manoela SANTANNA¹; Patrícia NUNES-SILVA¹; Marcelo ZAGONEL-OLIVEIRA¹

¹Laboratório de Ecologia Espacial, Sala 242 E04, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (Unisinos), São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Resumo: O mirtilo é amplamente cultivado e características específicas das flores de *Vaccinium* como a forma e tamanho das flores podem determinar o sucesso da interação planta-polinizador. A morfologia floral das cultivares de mirtilo plantadas no Brasil não foi estudada e seu impacto na polinização ainda é desconhecido. Nosso objetivo foi avaliar o papel da morfologia floral na interação com os visitantes florais, ou seja, verificar se a morfologia floral difere entre as nove cultivares avaliadas e se for o caso, qual a influência da mesma na polinização do mirtilo. Para isso, medimos cinco características florais (diâmetro da abertura da corola; comprimento da corola; largura da corola; distância antera-estigma, comprimento do estilete) em cada flor, 50 flores foram medidas para cada cultivar, um total de 450 flores, para as seguintes cultivares: Bluebelle, Bluegem, Britteblue, Clímax, Powderblue, Woodard e Delite, em duas localidades no Rio Grande do Sul (Veranópolis e Guaíba). Para avaliar o impacto da morfologia floral na polinização, contamos o número de grãos de pólen no estigma das flores. O resultado da Análise de Componentes Principais (PCA) nos indica que existe um padrão de tamanhos e formas distintas entre as flores de mirtilo. A MANOVA confirma a diferença na morfologia floral entre as cultivares, exceto o diâmetro da abertura da corola das flores do pomar de Veranópolis, onde não houve diferença entre os cultivares. O cultivar Bluegem apresentou maior número de grãos de pólen depositados no estigma e obteve o maior comprimento da corola, menor distância antera-estigma. Flores com menores distâncias antera-estigma apresentaram maior número de grãos de pólen no estigma, o que pode aumentar as chances de autopolinização nas cultivares que são autoférteis. Além de maiores aberturas florais em Bluebelle o que facilita na coleta de recurso pelo polinizador. A cultivar Delite foi a que

apresentou as menores medidas nas flores e o menor número de pólen depositados no estigma. Com isso observamos que a morfologia floral pode influenciar na polinização e com base nestes resultados podemos concluir que Bluegem e Bluebelle são cultivares que apresentam características favoráveis para polinização de mirtilo. Em contrapartida Delite apresentou características que podem ser limitantes na polinização de mirtilo. Até então não haviam estudos sobre o efeito das características florais das cultivares de *V. ashei*, este é um estudo pioneiro que mostra o potencial que a morfologia floral tem em impactar a eficiência dos polinizadores na polinização do mirtilo.

Palavras-chave: mirtilo; abelhas; polinização; caracteres florais

Abstract: Blueberry is widely cultivated and specific characteristics of *Vaccinium* flowers such as the shape and size of the flowers can determine the success of the plant-pollinator interaction. The floral morphology of blueberry cultivars planted in Brazil has not been studied and its impact on pollination has yet to be known. Our objective was to evaluate the role of floral morphology in the interaction with the visitors florais, or also, to verify whether the floral morphology differs between the cultivars and in each case, which is the influence of the same pollination of the blueberry. For isso, we measured five florais characteristics (corolla opening diameter; corolla width; corolla length; anther-stigma distance, stylet length) for the following cultivars: Bluebelle, Bluegem, Britteblue, Climax, Powderblue, Woodard and Delite, In two localities of Rio Grande do Sul (Veranópolis and Guaíba). To assess the impact of the floral morphology in pollination, we count the number of pollen grains of stigma in the flowers. The result of the Principal Component Analysis (PCA) indicates that there is a pattern of sizes and different shapes among the blueberry flowers. MANOVA confirms the differences in the floral morphology between the cultivars, exception the diameter of the opening of the corolla of the Veranópolis orchard flowers, where there is no difference between the cultivars. Or cultivar Bluegem appears greater number of deposited pollen grains, in stigma and greater length of the corolla, less anther-stigma distance. Flowers with smaller anther-stigma distances present a greater number of pollen grains in stigma, that may increase the chances of self-pollination of cultivars that are self-fertile. Also, there are larger openings florais in some cultivars that facilitate the reach of the pollinator to the resource. A cultivar Delite apresent to smaller flower sizes and fewer pollen deposited in stigma. As a result, we observe that floral morphology can influence pollination. There have been no studies on the effect of the flower characteristics of cultivars of *V. ashei*, this is a pioneering study that shows the potential that the floral morphology may affect the efficiency of pollinators in pollination of the blueberry.

Keywords: Blueberry; bees; pollination; floral characters

1 INTRODUÇÃO

A polinização é influenciada por diversos fatores, espécies de plantas intimamente relacionadas frequentemente exibem grande variação na forma e função das flores (Martén-Rodríguez et al., 2009). Fenótipos florais são conhecidos pela ligação direta com a polinização e a interação com o polinizador. Compreendem desde a bioquímica (por exemplo, composição de atrativos e recompensas, Baker & Baker, 1990), características fenológicas (por exemplo, padrões de deiscência das anteras) e a morfologia floral (Castellanos et al., 2006; Courcelles et al., 2013; Arrington & DeVette, 2018).

As características florais evoluíram para aumentar a transferência de pólen pelos visitantes e para impedir os visitantes antagônicos (Stebbins, 1970; Fenster et al., 2004). Um exemplo de interação antagônica é o roubo de néctar é uma interferência exploratória na relação mutualista, da planta -polinizador, pois esta atividade acarreta em consequências negativas para a planta e para os polinizadores que coletam o recurso de forma legítima, pois os danos causados às flores causam a redução ou perda da atratividade floral, levando assim a mudanças no comportamento e frequência dos polinizadores (Irwin et al., 2010; Garcia et al., 2017; Richman et al., 2017). Desta forma a morfologia floral interfere diretamente no comportamento do visitante e consequentemente na sua eficiência como polinizador, pois limitações impostas pela morfologia floral podem restringir o acesso às recompensas florais (Courcelles et al., 2013).

Características como a forma e o tamanho das flores podem determinar o sucesso da interação planta-polinizador, ou seja, se ocorrerá de fato a polinização (Rech et al., 2014). Isso ocorre porque os visitantes florais apresentam uma diversidade de tamanho corporal e dependendo do tamanho ou forma da flor podem tocar ou não nas estruturas reprodutivas das flores (Silva et al., 2014).

O mirtilo se encaixa neste contexto, pois depende da polinização por abelhas para alcançar uma produção satisfatória e produzir rendimentos economicamente viáveis, com a polinização responsável por 50-66% da produção total de frutas (Gibbs et al., 2016). Além disso, possui inúmeros cultivares, os quais são o resultado de reprodução seletiva para rendimento em

condições ambientais particulares, ou seja, são híbridos selecionados a partir da espécie alvo, a fim de selecionar características mais viáveis para o cultivo para aumentar a produção (Evenson & Gollin, 2003). No entanto, essa criação pode, adicionalmente, dar origem a variações na morfologia (Courcelles et al., 2013). As flores de mirtilo apresentam características específicas que podem trazer consequências para polinização. A distância entre o estigma e os poros da antera de onde o pólen é liberado, juntamente com a forma da corola, reduzem a autopolinização na flor. Pois quando a antera está deiscente, o pólen geralmente cai fora dela, sem que ocorra a polinização. As anteras circundam o pistilo, mas na ausência da visitação por insetos, poucos grãos de pólen caem no seu estigma (Shutak & Marucci, 1966; Ritzinger & Lyrene, 1999; Raseira & Antunes, 2004; Witter et al., 2014; Arrington & DeVetter, 2018).

A teoria de forrageamento ótimo (Pyke, 1984) que prediz que para que um indivíduo obtenha maior taxa de ganho energético, os custos energéticos relacionados com a busca do alimento não podem ser maiores que o benefício energético das mesmas. Essa teoria é citada por Courcelles et al., (2013) onde ele a relaciona com a variação na morfologia entre os cultivares de mirtilo que deve influenciar a taxa de visitas por abelhas, bem como sua capacidade de polinizar esta cultura de forma eficaz. Ou seja, estas limitações impostas pela morfologia floral, podem encorajar o comportamento de coleta de néctar de forma ilegítima. Pois estas limitações podem gerar aos polinizadores um custo energético maior que o benefício do recurso alimentar, ao tentar coletar o néctar por uma abertura floral reduzida. E isso acaba prejudicando a eficiência na polinização e conseqüentemente a taxa de frutificação reduzida e frutos de baixa qualidade (Courcelles et al., 2013). Por exemplo, o tamanho da abertura do tubo floral é conhecido por determinar a taxa de visitação pelas abelhas o qual é maior em flores com aberturas do tubo floral maiores (Courcelles et al., 2013). Além disso, algumas abelhas geralmente têm línguas mais longas do que outras (Goulson, 2010), assim cultivares de mirtilo com corolas mais longas ou mais estreitas podem limitar o acesso de determinadas espécies às recompensas de néctar, aumentando o tempo de manuseio e diminuindo a taxa de aquisição de recursos e conseqüentemente, encorajando o roubo de néctar (Free, 1993; Courcelles et al., 2013).

O objetivo deste estudo foi determinar se existe diferença na morfologia floral entre as cultivares e se for o caso, qual a influência da morfologia floral na polinização do mirtilo. Nossa hipótese é que existe diferença morfológica nas flores entre as cultivares e esta diferença pode causar impacto na polinização do mirtilo, já que todas as características morfológicas das flores do mirtilo são conhecidas por apresentarem limitações e restrições aos polinizadores (Wilson et al., 2004; Kudo & Harder, 2005; Martén-Rodríguez et al., 2009). Atualmente não há estudos sobre características florais em cultivos de mirtilo no Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados primeiramente na FEPAGRO Serra, localizada em Veranópolis – RS, (28°53'26.77"S- 51°32'46.89"O), (Fig.1) durante a floração do mirtilo, a qual ocorre nos meses de agosto a outubro (Antunes et al., 2008).

O pomar de mirtilo da FEPAGRO Serra foi implantado durante os anos de 1995 e 1996, tendo entre 22 a 23 anos. A área do pomar é de 12 m por 23 m (0,03 ha) e o espaçamento entre plantas é de 1 m entre filas de 3 m, com cinco arbustos para cada cultivar dos quais foram selecionados três arbustos de cada cultivar para realizar os experimentos. Neste pomar avaliamos 6 cultivares que apresentaram floração (Bluebelle, Bluegem, Britteblue, Clímax, Powderblue, Woodard), no período dos experimentos, que ocorreram entre 19 a 21 de agosto de 2019.

Um segundo período do estudo ocorreu de 02 de setembro a 11 de outubro de 2019, na propriedade rural Granja Santa Inês, localizada em Guaíba – RS, (30°7'49.07"S- 51°25'32.67"O), (Fig.1). Esse pomar de mirtilo foi implementado em 2011 e possui uma área de 6.303 m², onde 3 cultivares, Bluegem, Bluebelle, Delite, apresentaram floração no período de estudo e foram avaliadas. O pomar possui duas linhas de plantio para cada cultivar, com espaçamento de 1 metro, onde foram estabelecidos um transecto de 20 metros para cada linha de plantio.

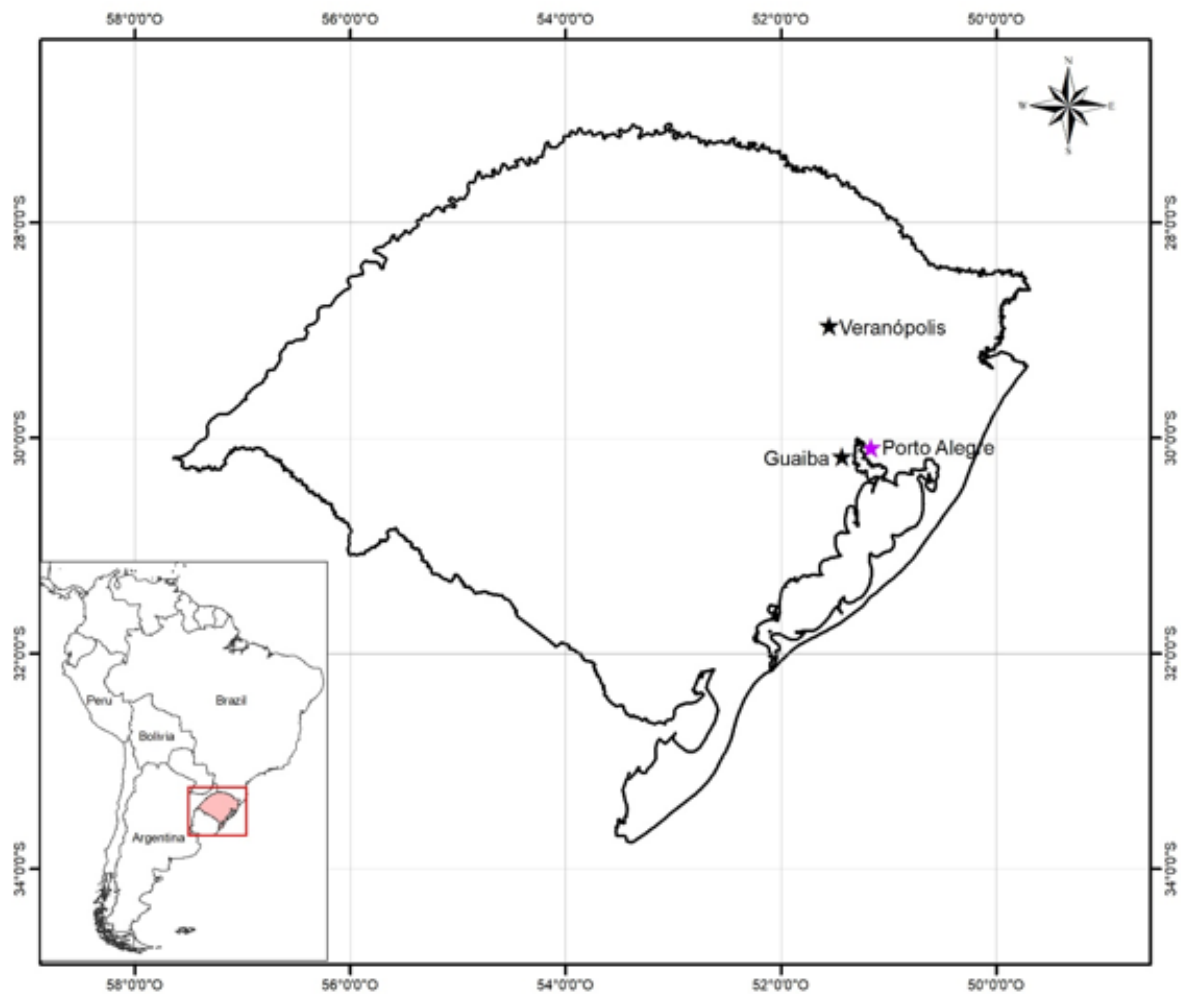


Fig. 1 - Mapa de localização: América do Sul destacando o Estado do Rio Grande do Sul em vermelho e mapa do Estado do RS, onde podemos observar a capital Porto Alegre e as localidades do estudo (Veranópolis e Guaíba).

2.1 Avaliação da morfologia floral nos diferentes cultivares de mirtilo

Para realizar as medidas morfológicas, 50 flores foram coletadas de cada cultivar nas duas localidades, totalizando 450 flores. Foram escolhidas a primeira e segunda flor do ápice da inflorescência, sem perfuração e com a corola completamente aberta. Esse critério foi utilizado já que as flores de mirtilo se abrem primeiramente no ápice da inflorescência, de modo a eliminar a idade da flor como um determinante da variação na morfologia entre as cultivares (Courcelles et al., 2013). Após a coleta, as flores foram armazenadas em tubo Falcon 50ml com álcool 95% e mantidas no congelador até que as medições pudessem ser concluídas em laboratório.

Posteriormente as medidas foram realizadas no Laboratório de Ecologia Espacial e Laboratório de Morfometria Geométrica, localizado na Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo – RS. Para as medições nas flores utilizamos estereomicroscópio Leica, com câmera acoplada, utilizando LAS Software V. 4.12.0, 2017.

As inflorescências do mirtilo consistem em racemos localizados no terço final do ramo (Sezerino, 2007). As flores tem a forma de campânula (Fig. 2A) e apresentam a corola com pétalas brancas ou cor de rosa (Fig. 2A). São flores perfeitas, ou seja, possuem as estruturas reprodutivas feminina e masculina na mesma flor, realizam autopolinização (Fig. 2B). Possuem uma corola simpétala com quatro ou cinco lóbulos. Os estames são em número de oito ou dez, geralmente o dobro do número de lóbulos da corola. As anteras têm a forma de tubos ocos, alongados, com um poro na extremidade, por onde sai o pólen, são anteras poricidas (Sezerino, 2007; Witter et al., 2014; Arrington & DeVetter, 2018).

Os seguintes caracteres florais foram medidos para avaliar a variação desta forma: diâmetro da abertura da corola (Fig. 3A); largura da corola (ponto mais largo (Fig. 3B); comprimento da corola (desde a base do tubo floral até a abertura da corola) (Fig. 3C). Em seguida, usamos uma tesourinha (Fig. 4B) para fazer um corte longitudinal na corola para permitir as seguintes medições: distância entre as anteras e o estigma (Fig. 3D); comprimento do estilete (Fig. 3E), todas as medidas em milímetros (Fig. 3).



Fig. 2 - Flores de mirtilo e grãos de pólen: (A) flor de mirtilo; (B) flor de mirtilo com corte longitudinal na corola; (C) grãos de pólen observados em microscópio óptico em lâmina corada com fucsina.

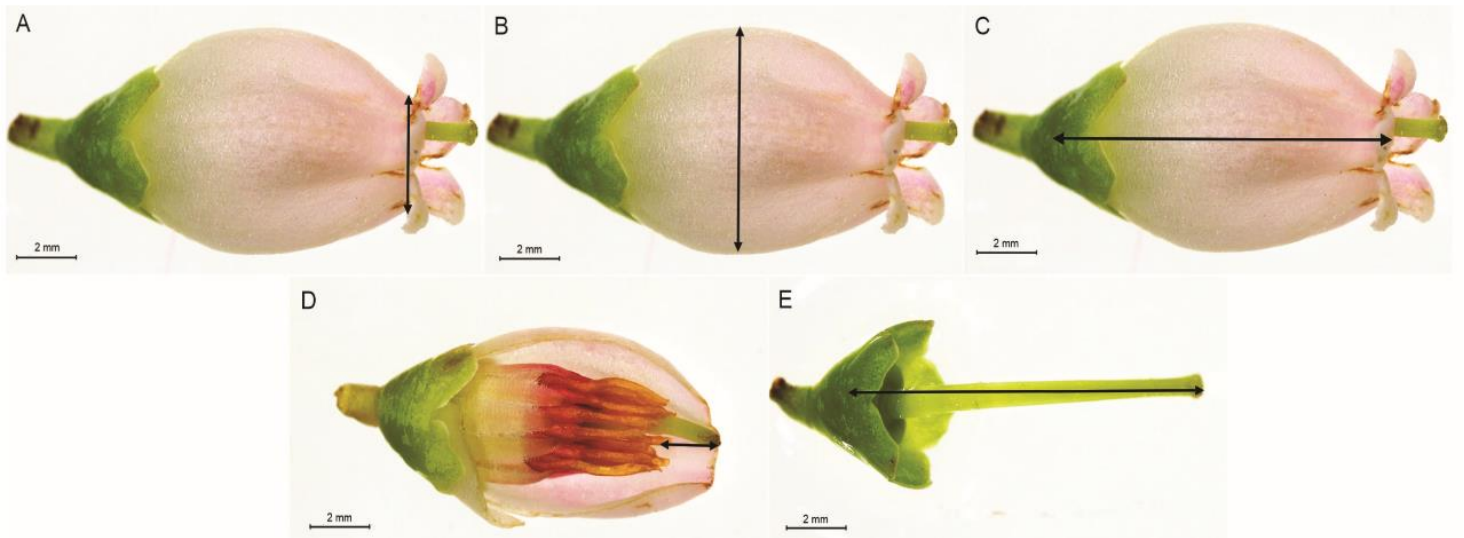


Fig. 3 - Representação das medidas morfológicas das flores de mirtilo: (A) diâmetro da abertura da corola; (B) largura da corola (ponto mais largo); (C) comprimento da corola (base do tubo floral até a abertura da corola); (D) distância antera-estigma; (E) comprimento do estilete.

2.2 Avaliação do número de grãos de pólen no estigma

Para avaliar o número de grãos de pólen depositados nos estigmas das flores dos diferentes cultivares, coletamos 15 botões florais de cada cultivar, um total de 135 botões. Foram escolhidos os botões no ápice das inflorescências, que foram marcados com linha azul para monitoramento da antese, e, após 24h, os botões que abriram foram coletados e armazenados em tubo Falcon 50ml com álcool 70% e mantidos no congelador para posterior análise (Fig. 4A).

Posteriormente, no Laboratório de Histologia da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo – RS, foi realizada a contagem dos grãos de pólen no estigma. Para isso, preparamos gelatina glicerinada corada com fucsina para fixação dos grãos de pólen e montamos lâminas (Dafni et al., 2005) (Fig. 4B). Após a substância permanecer em refrigerador, a lâmina foi aquecida em uma chapa aquecedora em 40°C e o estigma foi cortado e colocado sobre essa lâmina e pressionado pela lamínula (Fig. 4C). Em seguida, com auxílio de um microscópio óptico, contamos o número de grãos de pólen presentes no estigma dos diferentes cultivares (Fig. 4D).

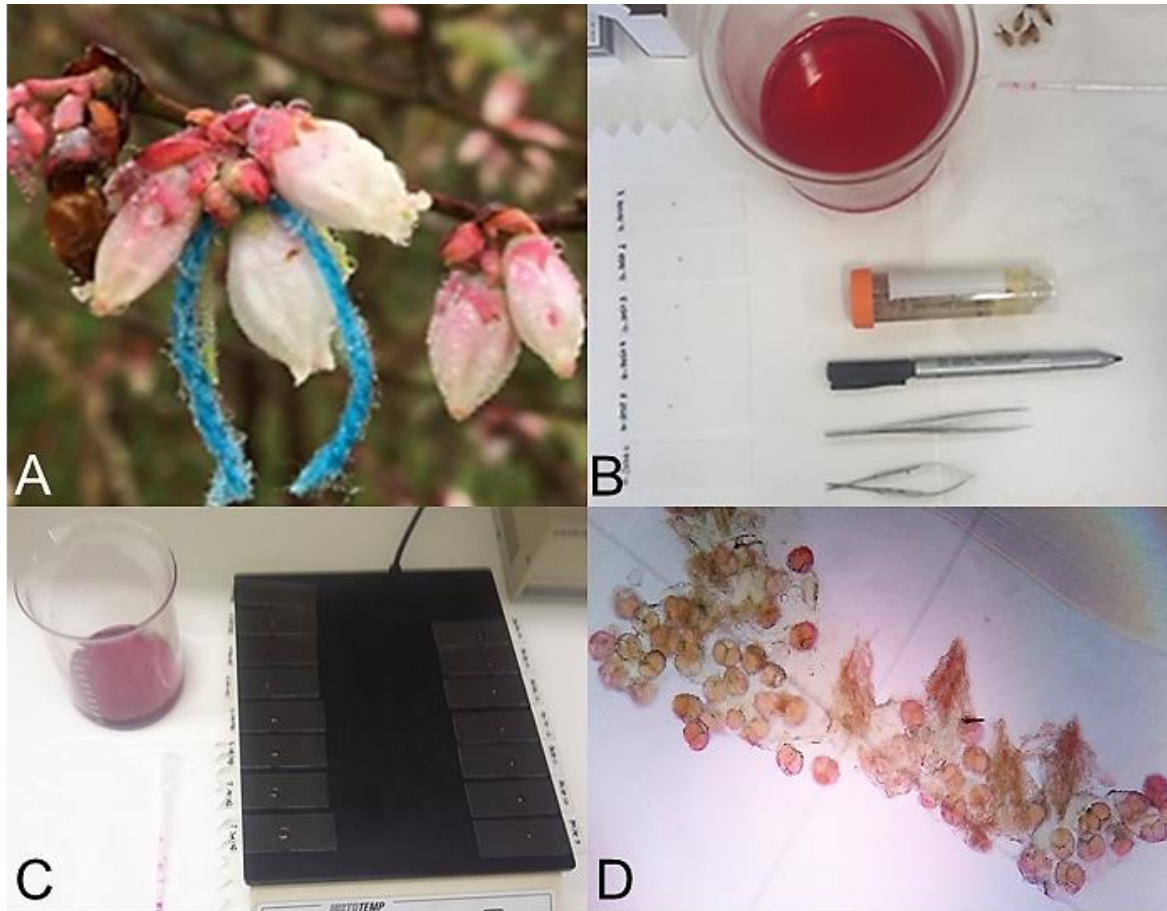


Fig. 4 - A) flor com marcação de linha azul para avaliar grãos de pólen no estigma; B) montagem de lâminas com gelatina-glicerinada corada com fucsina para fixação nos grãos de pólen e materiais de uso; C) lâmina aquecida em uma chapa aquecedora em 40°C; D) imagem de grãos de pólen observados no microscópio óptico no momento da contagem.

2.3 Análises

Para todas as análises estatísticas utilizamos o Software R versão 3.1.6. (R Development Core Team, 2020). Reduzimos a dimensionalidade dos dados usando uma Análise de Componentes Principais (PCA), baseada em Correlação para testar se a partir dos dados, podemos identificar um padrão de tamanho nas flores entre os cultivares, após foi realizado uma análise de Bootstrap buscando avaliar a significância dos eixos de ordenação. Para analisar se existe diferença no conjunto de caracteres florais medidos entre as cultivares realizamos uma Análise de Variância Multivariada (MANOVA).

Realizamos MANOVA também comparando os caracteres medidos entre cultivares que repetiram nas diferentes localidades (Bluegem, Bluebelle), para avaliar se existe ou não variação na morfologia floral entre flores de árvores de locais diferentes, a fim de optar por manter ou não as análises separadas por localidade.

Após foi realizado testes de pressupostos de normalidade e homogeneidade (Shapiro-Wilk; Levene); seguido de Kruskal-Wallis e Post-hoc (Teste Dunn) já que dados não atenderam aos pressupostos, para cada carácter medido em relação às cultivares, em cada uma das localidades.

Para avaliar se existe diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma entre os cultivares, realizamos os mesmos testes mencionados acima.

3 RESULTADOS

Ao realizarmos MANOVA comparando os caracteres entre cultivares que ocorriam nas duas localidades (Bluegem, Bluebelle), não houve diferença na morfologia de Bluebelle ($F = 1.950$; $df = 1$; $p = 0.100$), mas houve diferença entre Bluegem ($F = 37.957$; $df = 1$; $p = 0.001$). Desta forma optamos por realizar todas as análises separadas por localidade.

3.1 Avaliação da morfologia floral para dados coletados em Veranópolis

A morfologia floral apresentou variação de tamanho e forma entre as cultivares, quando reduzimos a dimensionalidade dos dados através da Análise de Componentes Principais (PCA). Os dois primeiros componentes explicaram 61% da variância total dos dados. A análise de Bootstrap apresentou significância dos eixos ($p = 0.006$) e segue com o mesmo padrão observado no PCA, ou seja, PC1 relacionado ao tamanho das estruturas florais, PC2 segue com uma relação da variação morfológica com a forma das estruturas florais.

O comprimento do estilete e da corola foram variáveis que apresentaram correlação maior com o PC1 (33.8%), ($r = 0.60$), ($r = 0.64$) respectivamente (Tabela 1). A largura da corola e o diâmetro da abertura da corola foram as variáveis que apresentaram uma correlação maior com o PC2 (26.9%), ($r = -0.68$), ($r = -0.66$), respectivamente (Tabela 1). PC3, PC4 e PC5 explicaram (39.3%) da variação dos dados. A distância antera-estigma apresentou uma correlação maior com PC3 ($r = -0.77$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados da PCA, correlação das variáveis e eixos de ordenação, para as medidas morfológicas das flores de *V. ashei*, em Veranópolis-RS

Variáveis medidas	PC1	PC2	PC3
Diâmetro Abertura Corola	-0.04	-0.66	0.45
Distância antera-estigma	0.43	-0.19	-0.77
Largura corola	0.17	-0.68	-0.08
Comprimento corola	0.60	0.20	0.37
Comprimento estilete	0.64	0.08	0..23

As cultivares Clímax, Britteblue, Powderblue e Woodard apresentaram flores com menores diâmetros da abertura da corola e menor comprimento da corola e estilete (Fig. 5).

Woodard e Bluebelle apresentaram flores com menor largura da corola e menor distância antera-estigma (Fig. 5). Bluegem apresentou flores com maior diâmetro da abertura da corola e flores com maiores larguras e comprimento de corola e estilete (Fig. 5).

A MANOVA indicou diferença da morfologia floral entre as cultivares ($F=1.470$; $df=5$; $p=0.001$). Portanto, a partir das análises foi possível observar que existe uma variação na morfologia floral entre as cultivares em Veranópolis (Fig.5).

Para todas as medidas da morfologia floral, os dados não apresentaram distribuição normal e homogênea, desta forma optou-se pelo teste Kruskal-Wallis, seguido de teste Dunn, para observar quais medianas diferiram no conjunto dos dados.

A partir do teste de Kruskal-Wallis o diâmetro da abertura da corola não apresentou diferença entre as cultivares ($H=7.534$; $df=5$; $p=0.183$) (Tabela 2). O comprimento da corola foi diferente entre as cultivares ($H=144.86$; $df=5$; $p=0.001$), assim como a largura da corola ($H=85.396$; $df=5$; $p=0.001$), distância antera-estigma ($H=77.699$; $df=5$; $p=0.001$) e o comprimento do estilete ($H=$

102.41; $df= 5$; $p= 0.001$) (Fig. 6). O teste de Dunn, indicou quais medianas diferiram no conjunto de dados e os valores podem ser observados (Tabela 2).

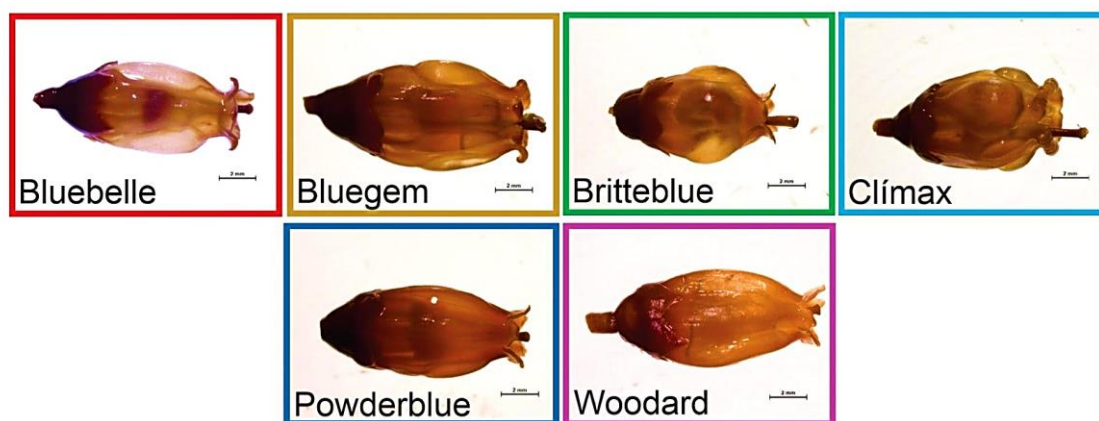
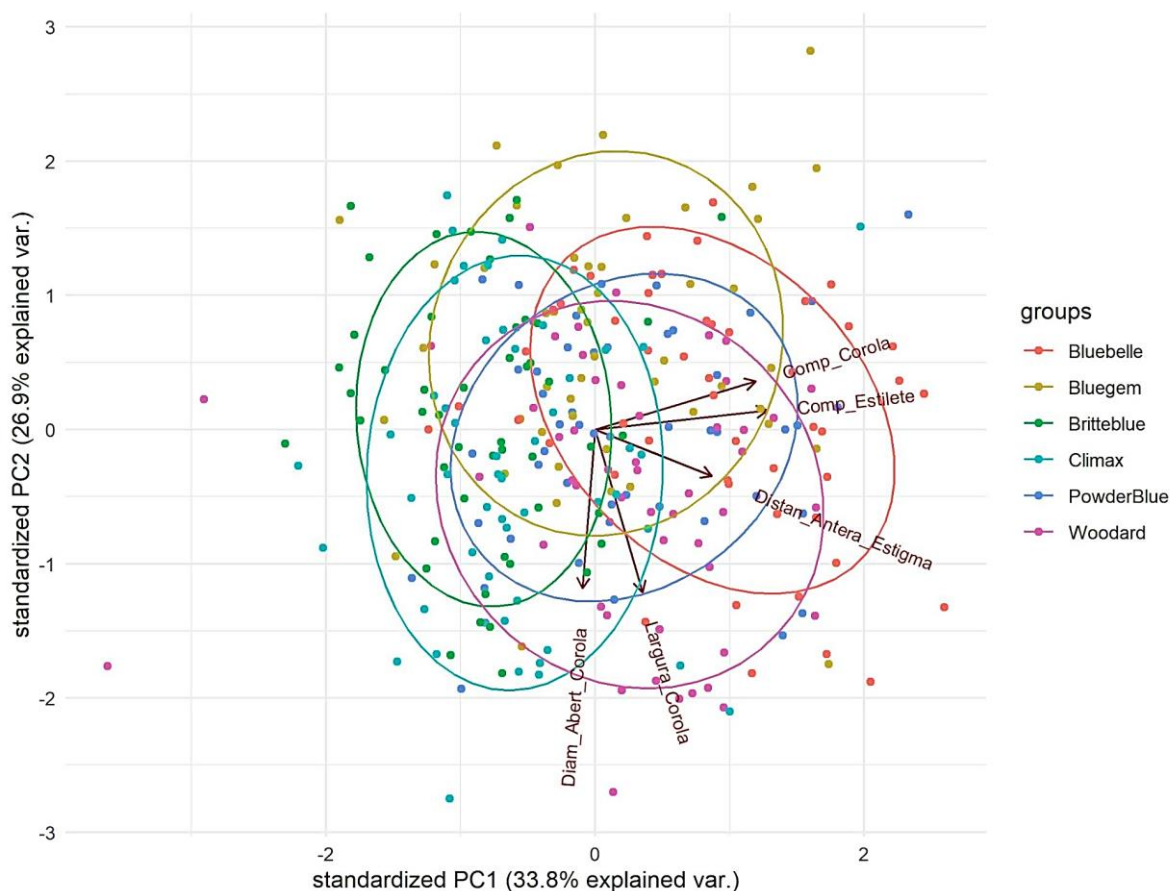


Fig. 5 - Resultados da (PCA) para as características morfológicas das flores de *V. ashei* em Veranópolis- RS. Variáveis morfológicas medidas: diâmetro da abertura da corola; distância entre antera-estigma; largura da corola; comprimento da corola; comprimento do estilete, representadas pelos pontos coloridos e grupos de cultivares representados pelas diferentes cores, fotos representando cultivares.

Tabela 2 - Valores da mediana (\pm amplitude interquartil). Cada carácter medido é representado pela letra maiúscula, diâmetro abertura da corola (DAC); comprimento da corola (CC), largura da corola (LC), distância antera-estigma (DAE), comprimento do estilete (CE), para as flores de *V. ashei* em Veranópolis-RS.

Cultivar	DAC	CC	LC	DAE	CE
Bluebelle	2.57 \pm 0.29 a	8.74 \pm 0.63 a	5.44 \pm 0.62 a	2.26 \pm 0.49 a	9.21 \pm 0.94 a
Bluegem	2.71 \pm 0.41 a	8.58 \pm 0.68 a	5.07 \pm 0.39 b	1.81 \pm 0.35 b	8.80 \pm 1.07 a
Britteblue	2.57 \pm 0.32 a	7.41 \pm 0.49 b	5.29 \pm 0.43 b	2.20 \pm 0.39 a	8.04 \pm 0.49 b
Clímax	2.70 \pm 0.43 a	7.83 \pm 0.56 b	5.67 \pm 0.44 a	1.77 \pm 0.43 b	8.34 \pm 0.53 a
Powderblue	2.64 \pm 0.35 a	8.38 \pm 0.63 a	5.49 \pm 0.36 a	2.00 \pm 0.44 a	8.64 \pm 0.83 a
Woodard	2.65 \pm 0.35 a	8.54 \pm 0.52 a	5.71 \pm 0.68 a	2.29 \pm 0.33 a	8.30 \pm 0.44 b

Nota: As letras minúsculas indicam o resultado $\alpha = 0.05$ Post-hoc, letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre as medianas.

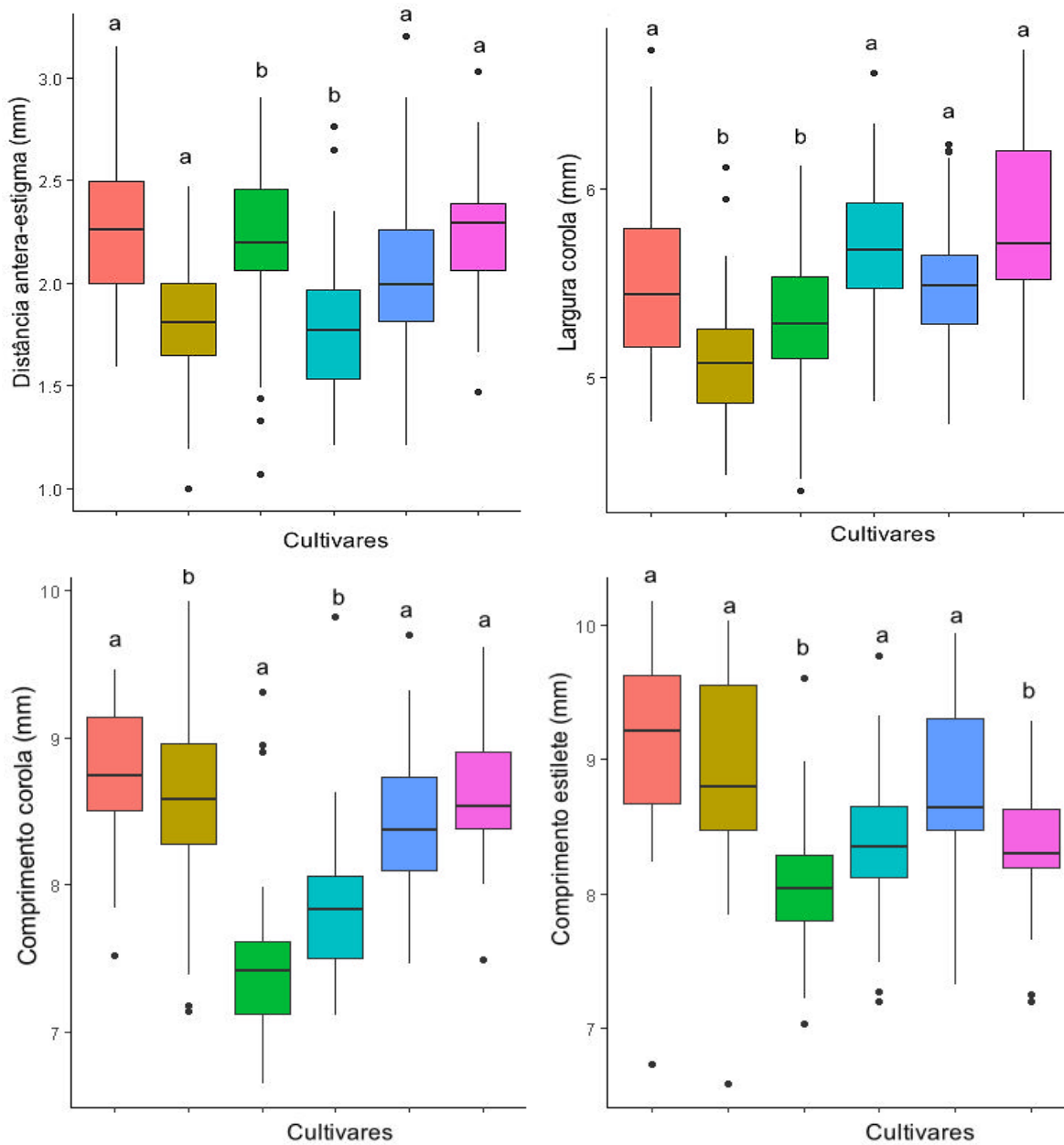


Fig. 6 - Resultados do teste Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) para flores de *V. ashei*, em Veranópolis-RS. (A) distância antera- estigma; (B) largura da corola; (C) comprimento da corola; (D) comprimento do estilete. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre as cultivares, cores representando diferentes cultivares: Bluebelle (rosa); Bluegem (amarelo); Britteblue (verde); Clímax (azul claro); Powderblue (azul escuro); Woodard (lilás).

3.2 Avaliação da morfologia floral para dados coletados em Guaíba

A morfologia floral apresentou um padrão de variação de tamanho e forma entre as cultivares, quando reduzimos a dimensionalidade dos dados através da Análise de Componentes Principais (PCA). Os dois primeiros componentes explicaram 68% da variância total dos dados. A análise de Bootstrap apresentou uma significância dos eixos de ($p= 0.004$) e segue com o mesmo padrão observado no PCA, ou seja, PC1 relacionado ao tamanho das estruturas florais, PC2 segue com uma relação da variação morfológica com a forma das estruturas florais.

O diâmetro da abertura da corola e largura da corola foram variáveis que apresentaram correlação maior com o PC1 (42%), ($r = -0.56$), ($r= -0.56$) respectivamente (Tabela 3). Comprimento da corola e estilete foram as variáveis que apresentaram uma correlação maior com o PC2 (26%), ($r= 0.59$), ($r= 0.76$), respectivamente (Tabela 4). PC3, PC4 e PC5 explicaram (32%) da variação dos dados. A distância antera-estigma apresentou correlação maior com o PC3 ($r= 0.61$) (Tabela 3).

A cultivar Bluegem e Bluebelle apresentaram flores com maior comprimento da corola, largura e estilete (Fig. 7). Bluegem apresentou flores com maior diâmetro da abertura da corola (Fig. 7). Delite apresentou flores com as menores medidas para todos os caracteres (Fig. 7).

A MANOVA indicou diferença da morfologia floral entre as cultivares ($F= 47.531$; $df= 2$; $p=0.001$). Portanto, a partir das análises foi possível observar que existe uma variação na morfologia floral entre as cultivares de Guaíba (Fig. 7).

Para todas as medidas da morfologia floral, os dados não apresentaram distribuição normal e homogênea, desta forma optou-se pelo teste Kruskal-Wallis, seguido de teste Dunn, para observar quais medianas diferiram no conjunto dos dados.

A partir do teste de Kruskal-Wallis o diâmetro da abertura da corola apresentou diferença entre as cultivares ($H= 47.961$; $df= 2$; $p= 0.001$), assim como o comprimento da corola ($H= 90.616$; $df=2$; $p= 0.001$), a largura da corola ($H= 61.341$; $df= 2$; $p= 0.001$), distância antera-estigma ($H= 67.504$; $df= 2$; $p= 0.001$) e o comprimento do estilete ($H= 40.697$; $df= 2$; $p= 0.001$) (Fig. 8). O teste

de Dunn, indicou quais medianas diferiram no conjunto de dados e os valores podem ser observados (Tabela 4).

Tabela 3 - Resultados da PCA, correlação das variáveis e eixos de ordenação, para as medidas morfológicas das flores de *V. ashei*, em Guaíba-RS

Variáveis medidas	PC1	PC2	PC3
Diâmetro Abertura Corola	-0.56	0.13	0.38
Distância antera-estigma	-0.49	0.15	0.61
Largura corola	-0.56	0.15	-0.37
Comprimento corola	0.33	0.59	-0.44
Comprimento estilete	0.06	0.76	0.36

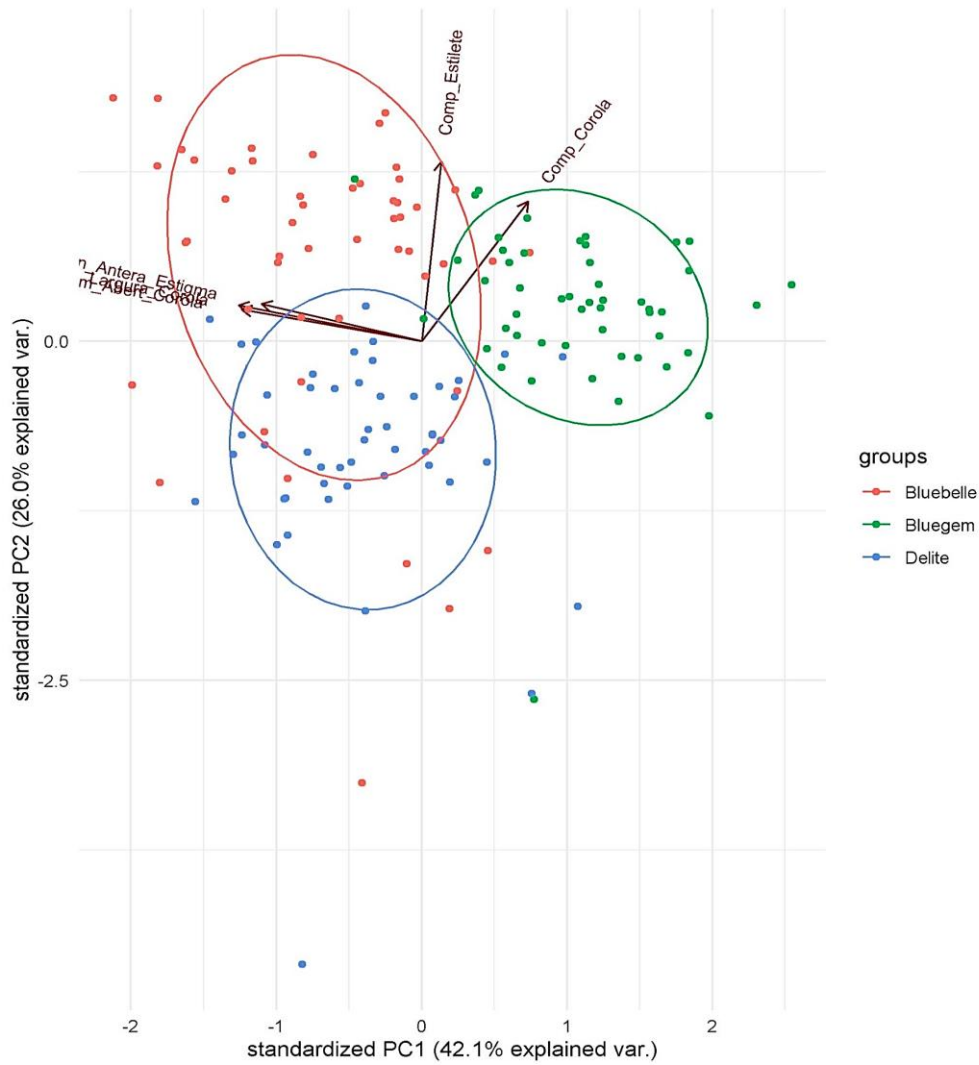


Fig. 7 - Resultados da (PCA) para as características morfológicas das flores de *V. ashei*, em Guaíba-RS. Variáveis morfológicas medidas: diâmetro da abertura da corola; distância entre antera-estigma; largura da corola; comprimento da corola; comprimento do estilete, representadas pelos pontos coloridos e grupos de cultivares representados pelas diferentes cores, fotos representando cultivares.

Para todas as medidas da morfologia floral, os dados não apresentaram distribuição normal e homogênea, desta forma optou-se pelo teste Kruskal-Wallis, seguido de teste Dunn, para observar quais medianas diferiram no conjunto dos dados.

A partir do teste de Kruskal-Wallis o diâmetro da abertura da corola apresentou diferença entre as cultivares ($H= 47.961$; $df= 2$; $p= 0.001$) (Tabela 4), assim como o comprimento da corola ($H= 90.616$; $df=2$; $p= 0.001$), a largura da corola ($H= 61.341$; $df= 2$; $p= 0.001$), distância antera-estigma ($H= 67.504$; $df= 2$; $p= 0.001$) e o comprimento do estilete ($H= 40.697$; $df= 2$; $p= 0.001$) (Fig. 7). O teste de Dunn, indicou quais medianas diferiram no conjunto de dados e os valores podem ser observados na (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores da mediana (\pm amplitude interquartil). Cada carácter medido é representado pela letra maiúscula, diâmetro abertura da corola (DAC); comprimento da corola (CC), largura da corola (LC), distância antera-estigma (DAE), comprimento do estilete (CE), para as flores de *V. ashei*, em Guaíba-RS.

Cultivar	DAC	CC	LC	DAE	CE
Bluebelle	2.94 \pm 0.53 a	9.37 \pm 0.88 a	6.25 \pm 0.59 a	2.79 \pm 0.57 a	9.88 \pm 0.59 a
Bluegem	2.70 \pm 0.40 b	9.85 \pm 0.51 b	5.47 \pm 0.33 b	1.93 \pm 0.28 b	9.62 \pm 0.52 a
Delite	2.48 \pm 0.29 c	7.96 \pm 0.59 c	5.86 \pm 0.34 c	2.76 \pm 0.28 a	9.05 \pm 0.59 b

Nota: As letras minúsculas indicam o resultado $\alpha = 0.05$ Post-hoc, letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre as medianas.

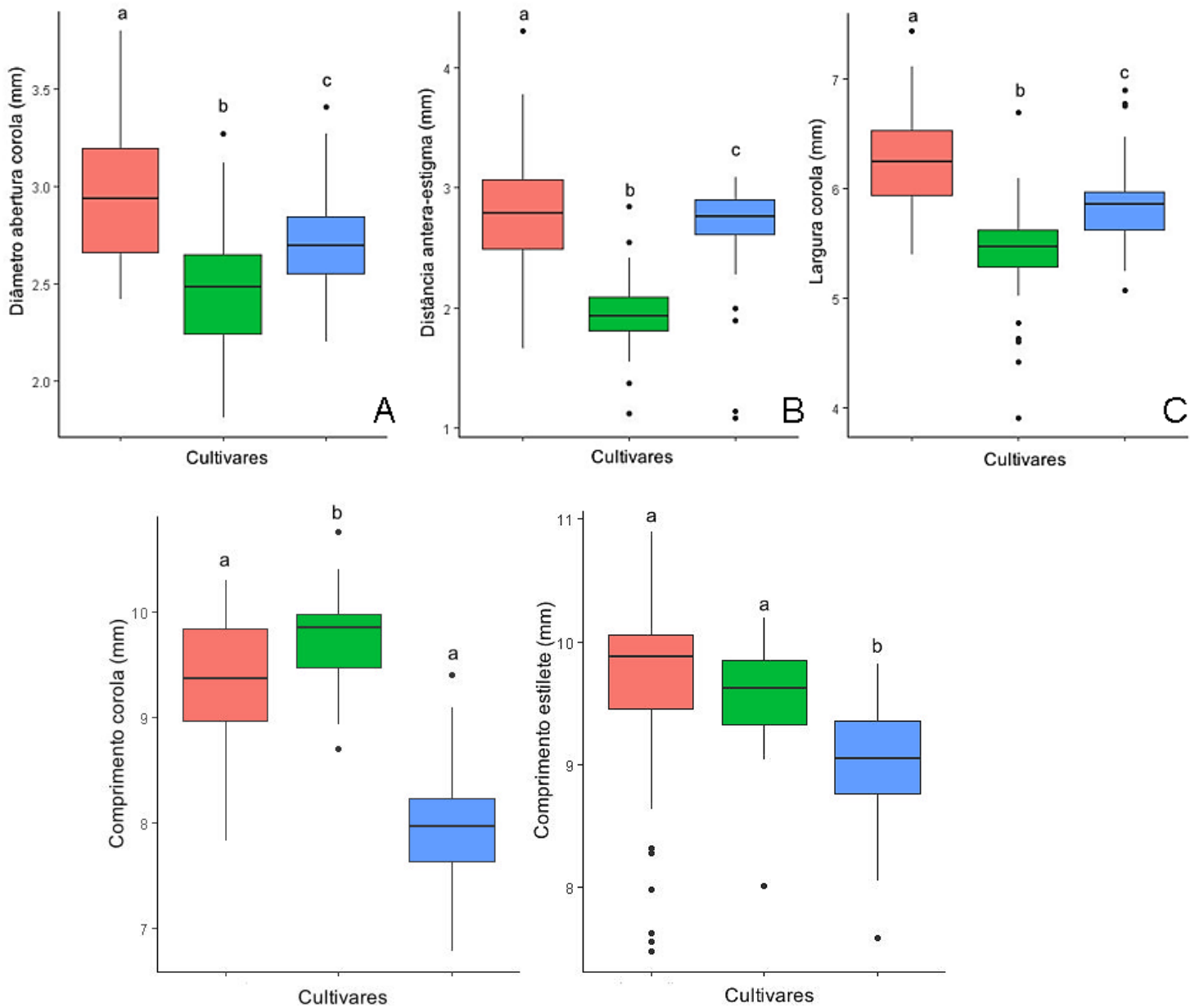


Fig. 8 - Resultados do teste Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$), para flores de *V. ashei*, em Guaíba-RS. (A) distância antera- estigma; (B) largura da corola; (C) comprimento da corola; (D) comprimento do estilete. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre as cultivares, cores representando diferentes cultivares: Bluebelle (rosa); Bluegem (verde); Delite (azul).

3.3 Avaliação do número de grãos de pólen depositados no estigma, para dados coletados de Veranópolis

Os dados do número de grãos de pólen presentes no estigma não apresentaram distribuição normal e homogênea, desta forma optou-se pelo teste Kruskal-Wallis, seguido de teste Dunn, para observar quais medianas diferiram no conjunto dos dados.

A partir do teste de Kruskal-Wallis podemos observar que ocorreu diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma das flores entre as cultivares ($H= 17.637$, $df = 5$, $p= 0.003$). Bluegem foi a cultivar que apresentou o maior número de grãos de pólen depositados no estigma (ver informações de apoio, Tabela 5).

Tabela 5 - Valores da mediana (mm), para as flores de *V. ashei*, em Veranópolis-RS

Cultivar	Número grãos de pólen
Bluebelle	2 ± 11 a
Bluegem	30 ± 65 b
Britteblue	15 ± 29 ab
Clímax	2 ± 10 a
Powderblue	7 ± 11 a
Woodard	10 ± 10 a

Nota: mediana (\pm amplitude interquartil). Letras minúsculas indicam o resultado Pos-hoc (Teste Dunn), letras distintas na coluna indicam diferença significativa entre as medianas.

3.4 Avaliação do número de grãos de pólen depositados no estigma, para dados coletados de Guaíba

O número de grãos de pólen presentes no estigma não apresentaram distribuição normal e homogênea, desta forma optou-se pelo teste Kruskal-Wallis, seguido do teste Dunn, para observar quais medianas diferiram no conjunto dos dados.

A partir do teste de Kruskal-Wallis podemos observar que ocorreu diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma das flores entre as cultivares ($H= 15.02$, $df = 2$, $p= 0.0005$). Bluegem foi a cultivar que apresentou o maior número de grãos de pólen depositados no estigma (ver informações de apoio, Tabela 6).

Tabela 6 - valores da mediana (mm), para as flores de *V. ashei*, em Guaíba-RS

Cultivar	Número de grãos de pólen
Bluebelle	2 ± 4 a
Bluegem	8 ± 8 b
Delite	1 ± 2 a

Nota: mediana (\pm amplitude interquartil). Letras minúsculas indicam o resultado Pos-hoc (Teste Dunn), letras iguais, diferença não significativa, letras distintas na coluna indicam diferença significativa entre as medianas.

4 DISCUSSÃO

Com os resultados podemos observar que houve diferença na morfologia floral *V. ashei* entre as cultivares e um padrão de tamanho e forma foi observado na análise de PCA.

Para análises dos dados de Veranópolis, observamos que ocorreu uma maior sobreposição das variáveis medidas entre as cultivares (Fig. 5). A sobreposição observada entre as cultivares pode ter ocorrido devido à uma maior similaridade da morfologia floral entre alguns cultivares em comparação a outros.

Na análise de PCA Clímax, Britteblue, Powderblue e Woodard apresentaram flores correlacionadas ao menor diâmetro da abertura da corola (Fig. 5) (Tabela 1) e obtiveram menor número de grãos de pólen depositados no estigma (mediana $2 < 10$ grãos de pólen), isso pode ser indicativo de que estas cultivares não apresentam morfologia favorável para polinização do mirtilo, exceto Britteblue (Tabela 5). Isso pode ter ocorrido devido ao fato destes cultivares apresentarem flores correlacionadas ao menor diâmetro da abertura da corola e esse fator que pode ter contribuído para reduzir o número de grãos de pólen no estigma. Diâmetros de abertura da corola reduzidos podem trazer maiores limitações ao acesso às recompensas florais e menores taxas de visita nas flores, como observado nos resultados de Courcelles et al. (2013) e consequentemente estas limitações podem diminuir a chance de deposição de pólen no estigma (Arrington & DeVette, 2018).

No teste de Dunn, os resultados indicaram que Bluebelle, Bluegem, Powderblue e Woodard foram as cultivares que apresentaram os maiores comprimentos de corola (8.38 mm < 8.74 mm), (Tabela 2), fator que também influencia na coleta de recurso floral pela abertura da flor, pois longas distâncias até o nectário dificultam o alcance do polinizador ao recurso alimentar e sem esta interação consequentemente um menor número de grãos de pólen foi depositado no estigma das flores destes cultivares (Arrington & DeVette, 2018).

Em Guaíba observamos que Bluegem apresentou flores com o maior comprimento de corola (9.85 mm > 7.96 mm), menor distância antera-estigma (1.93 mm < 2.79 mm) (Tabela 4) e o estigma projetado além da abertura floral e foi a cultivar com o maior número de grãos de pólen no estigma (mediana de $8 > 1$

grãos de pólen), este resultado nos indica que este cultivar é favorável a polinização (Tabela 6). Este resultado pode ter ocorrido porque as flores com um estigma protuberante podem ter maiores chances de serem expostas a grãos de pólen que aderem às abelhas em comparação com aquelas com um estigma dentro da corola (Arrington & DeVette, 2018).

Bluegem e Bluebelle apresentaram os maiores diâmetros de abertura da corola (2.70 mm < 2.94 mm), mais um indicativo de que estes cultivares tem um potencial maior para serem polinizados no mirtilo, respectivamente (Tabela 4). Para Courcelles et al. (2013) a abertura da corola e a largura maiores podem permitir mais flexibilidade à corola, influenciando a acessibilidade das partes florais pelas abelhas *A. mellifera*, pois as mesmas podem introduzir a cabeça com maior facilidade pela abertura floral, mesmo que o comprimento efetivo da língua das abelhas varie entre 6,4 e 7 mm (Free, 1993) e seja considerado uma medida curta para alcançar o nectário em alguns tipos de corolas tubulares. Bluegem apresentou o comprimento da corola com uma mediana de 9 mm (Tabela 2), mas como a abertura da corola foi maior para este cultivar, mesmo com corolas mais longas a abelha pode ter conseguido introduzir a cabeça na abertura da flor pela flexibilidade ocasionada pela maior abertura de flores de Bluegem, facilitando o alcance da sua língua até o nectário e isso pode ter sido suficiente para alcançar o recurso.

Delite foi a cultivar que apresentou o menor diâmetro (2.48 mm < 2.94 mm) e comprimento de corola (7.96 mm < 9.85 mm) quando comparada aos demais cultivares (Tabela 4) e reduzido número de grãos de pólen no estigma (mediana de 1<8 grãos de pólen), devido a este resultado, esse foi a cultivar que apresentou baixo potencial de polinização para o mirtilo (Tabela 6). Arrington & DeVette (2018) apontaram que as cultivares Blue Ribbon, Top Shelf e Cargo, quando comparados a Duke tinham flores significativamente menores e esse tamanho reduzido da flor pode resultar em acessibilidade limitada às anteras e estigmas por abelhas e outros polinizadores. Por sua vez, isso pode reduzir a polinização e subsequente a frutificação, o tamanho da baga e o rendimento das colheitas, desta forma essas cultivares irão requerer densidades de estocagem de abelhas mais altas para uma polinização efetiva. Assim como em Courcelles et al. (2013) onde observaram redução da visitação de abelhas melíferas (em ~ 50%) às flores nas cultivares Draper, Bluecrop e Liberty, quando comparadas

com Duke, pois todas apresentaram comprimentos de corola menores e aberturas menores em comparação com a cultivar Duke. As pequenas aberturas do tubo da corola indicaram que as flores de *V. ashei* não eram passíveis de polinização por insetos como por exemplo, as espécies de abelhas que não conseguem vibrar nas flores (Cane et al., 1993). Em vez disso, as flores de *V. ashei* parecem melhor adaptadas para polinização por abelhas que vibram os músculos do tórax, algumas das quais são nativas dos habitats naturais de *V. ashei*. Esses insetos são muito eficazes em espécies como mirtilos, cujas flores liberam pólen através dos poros terminais nas anteras em resposta às vibrações causadas pelos músculos do tórax de algumas abelhas (Corbet et al., 1988; Ritzinger & Lyrene, 1999; Arrington & DeVette, 2018).

O número reduzido de grãos de pólen nos estigmas observado como resultado na maioria dos cultivares em nosso estudo em partes podem estar relacionados ao grande número de polinizadores menos eficientes para o mirtilo, presentes nos pomares em que avaliamos, pois observamos a taxa de visita dos polinizadores (dados ainda não publicados) onde *Apis mellifera*, seguido de *Trigona spinipes*, foram os polinizadores que mais visitaram as flores de mirtilo. Desta forma, sugerimos um aumento da densidade de polinizadores mais eficientes, como por exemplo as abelhas capazes de vibrar os músculos do tórax (Campbell et al., 2017; Campbell et al., 2018), pois são capazes de extrair pólen de anteras vibrando seus corpos em alta frequência (ou seja, polinização por vibração). Como por exemplo, as espécies *Bombus pauloensis* Friese (1913); *B. morio* Swederus (1787); *Xyocopa hirsutissima* Maidl, 1912; *X. subciana* Pérez, 1901; e da família Halictidae (Witter et al., 2014; Sezerino et al., 2017) no cultivo de mirtilo. Outras estratégias de polinização podem ser necessárias para a polinização eficaz entre esses cultivares. Para tal, segundo Arrington & DeVette (2018) a presença de forragem alternativa para polinizadores nas fazendas é amplamente ditada pelo sistema de cultivo e pela intensidade do manejo da fazenda. Além do controle dos agricultores, a diversidade de plantas fora das áreas de cultivo também pode beneficiar os polinizadores com faixas de forrageamento suficientes. Trabalhos anteriores demonstraram que a abundância de abelhas nativas e a riqueza de espécies estão correlacionadas com a qualidade da cobertura vegetal ao redor de terras agrícolas e práticas de

gestão de fazendas locais (Kennedy et al., 2013 citado por Bobiwash et al., 2018).

Poucos estudos tentaram relacionar as características morfológicas da flor do mirtilo com a frutificação. Eck & Mainland (1971) mediram várias partes de flores de 35 cultivares de *V. corymbosum* (highbush) e observaram que a frutificação estava negativamente correlacionada com a distância entre o estigma e o poro da antera. A alta frutificação também foi associada a corolas curtas, largas no meio e estreitas na base. Flores com essas características possivelmente foram mais atraentes para insetos polinizadores pela facilidade de acesso ao recurso alimentar. Corolas com tubos longos e aberturas estreitas são típicos de mirtilos Rabbiteye e podem reduzir a polinização ao impedir a entrada das abelhas. A melhoria na forma das flores deve ser possível, dada a grande variação entre os clones em Rabbiteye para a maioria das características estruturais das flores (Lyrene, 1994; Ritzinger & Lyrene, 1999; Arrington & DeVette, 2018).

Em nosso estudo a morfologia entre cultivares foi diferente e este é um dos fatores que podem influenciar na polinização do mirtilo *V. ashei*. A partir destes resultados, observamos que as características morfológicas nas flores de Bluegem e Bluebelle foram favoráveis na polinização, desta forma, recomendamos incluir essas características da morfologia floral nos programas de melhoramento de cultivares no país, a fim de buscar uma produção satisfatória para esta cultura.

Seria interessante realizar os mesmos experimentos em outras localidades pois o clima, solo e o trato cultural mudam de uma região para outra e isso pode influenciar na morfologia floral e na composição da riqueza de espécies de polinizadores e, conseqüentemente, na polinização deste cultivo. O que nos possibilitaria fazer uma comparação mais ampla entre várias localidades para continuar buscando alternativas para um cultivo de mirtilo mais eficiente no país.

REFERÊNCIAS

Arrington, M. and DeVetter L.W. (2018). Increasing honey bee hive densities promotes pollination and yield components of highbush blueberry in Western Washington. *HortScience*, 53,191– 194.

Antunes, L. E. C., Gonçalves, E. D., Ristow N. C. et al. (2008). Fenologia, produção e qualidade de frutos de mirtilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43,1011–1015. DOI: 10.1590/S0100-204X2008000800009

Bobiwash, K., Uriel, Y. and Elle, E., (2018) Pollen foraging differences among three managed pollinators in the highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) agroecosystem. *J. Econ. Entomol.* 111, 26–32. DOI: 10.1093/jee/tox344

Baker, H. G. & Baker, I. (1990) The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator types. *Journal of Botany*, 39, 157–166.

Campbell, J.W., Kimmel, C. B., Bammer, M., Stanley-Stahr, C., Daniels, J. C., Ellis, J. D. (2018). Managed and Wild Bee Flower Visitors and their potential contribution to low-cold blueberry pollination services (*Vaccinium corymbosum* L.), Ericales: Ericaceae), *Journal of Economic Entomology*, 111 2011–2016. DOI: 10.1093/jee/toy215

Campbell, J. W., O'Brien, J. H., Irvin, C. B., Kimmel, J. C., Daniels and Ellis J. D. (2017). Managed bumble-bees (*Bombus impatiens*) (Hymenoptera: Apidae) caged with blueberry bushes at high density did not increase fruit set or fruit weight compared to open pollination. *Environ. Entomol.*, 46, 237–242. DOI: 10.1093/ee/nvx044

Courcelles, D. M., Button, M. L. & Elle, E. (2013) Bee visit rates vary with floral morphology among highbush blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal Applied Entomology*, 137, 693-701. DOI: 10.1111/jen.12059

Castellanos, M. C., P. Wilson, S. J. Keller, A. D. Wolfe, and J. D. Thomson. (2006). Anther evolution: pollen presentation strategies when pollinators differ. *Am. Nat.* 167:288–296.

Cane, J. H. & Payne J. A. (1993). Regional, annual, and seasonal variation in pollinator guilds: intrinsic traits of bees (Hymenoptera: Apoidea) underlie their patterns of abundance at *Vaccinium ashei* (Ericaceae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 86, 577–588.

Dafni, A., P. G. Kevan, and Husband B. C. (2005). Practical pollination biology. *Enviroquest*, Canada.

Evenson, R., Gollin, D. (2003). Crop variety improvement and its effect on productivity: the impact of international agricultural research. *CABI Publishing*, Cambridge.

Eck, P. & Mainland C. M. (1971). Highbush blueberry fruit set in relation to flower morphology. *HortScience*, 6, 494–495.

Free, J. (1993). Insect pollination of crops. *Academic Press Inc.*, San Diego.

Fenster, C. B., Armbruster, W.S., Thomson, J. D., Wilson, P. & Dudash, M. R. (2004) Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 35, 375–403.

Gibbs, J., Elle, E., Bobiwash, K., Haapalainen, T. & Isaacs, R. (2016). Contrasting pollinators and pollination in native and non-native regions of highbush blueberry production. *Plos One*, 11, e0158937. DOI:10.1371/journal.pone.0158937

Garcia, R., Acosta, J., Ramirez, A. (2017). Effect of Florivory on the Donation and Deposition of Pollen in *Ipomoea imperati*. *Journal of Agriculture and Ecology*, 13, 4.

Irwin, R., Bronstein, J., Manson, J., Richardson, L. (2010). Nectar robbing: ecological and evolutionary perspectives. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 41.

Kennedy C. M., Lonsdorf E., Neel M. C., et al. (2013). A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecol Lett*, 16, 584–599. DOI: 10.1111/ele.12082 PMID: 23489285

Kudo, G., Harder, L. D. (2005). Floral and inflorescence effects on variation in pollen removal and seed production among six legume species. *Funct. Ecol.* 19, 245–254.

Lyrene, P. M. (1994). Variation within and among blueberry taxa in flower size and shape. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 119, 1039–1042. DOI: 10.21273/HORTSCI.34.1.130

Martén-Rodríguez S., Almarales-Castro A., Fenster C. (2009). Evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *J. Ecol.* 97, 348–359. DOI:10.1111/j.1365-2745.2008.01465.x

Pyke, G. H. (1984). Optimal foraging theory: a critical review. *Ann. Rev. Ecol. Syst*, 15, 523–575.

R Core Team (2020). R: A Language and environment for statistical computing. Foundation R for Statistical Computing, Viena, Austria. Access in: <https://www.R-project.org/>.

Raseira, M. B. C., Antunes, L. E. C. (2004). A Cultura do mirtilo. (Documentos, 121) Pelotas: *Embrapa Clima Temperado*.

Rech, A. R., Westerkamp, C. (2014). Biologia da polinização: uma síntese histórica. In: Rech A. R., Agostini, K., Oliveira, P. E., Machado, I. C. *Projeto Cultural*, 27–43.

Ritzinger, R. and Lyrene P. M. (1999). Flower morphology in blueberry species and hybrids. *HortScience*, 34, 130–131

Richman, S. K., Irwin R., Nelson, C. J., and Bronstein, J. (2017). Facilitated exploitation of pollination mutualisms: Fitness consequences for plants. *Journal of Ecology*, 105, 188–196. DOI: 10.1111/1365-2745.12657

Stebbins, G. L. (1970) Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1, 307–326.

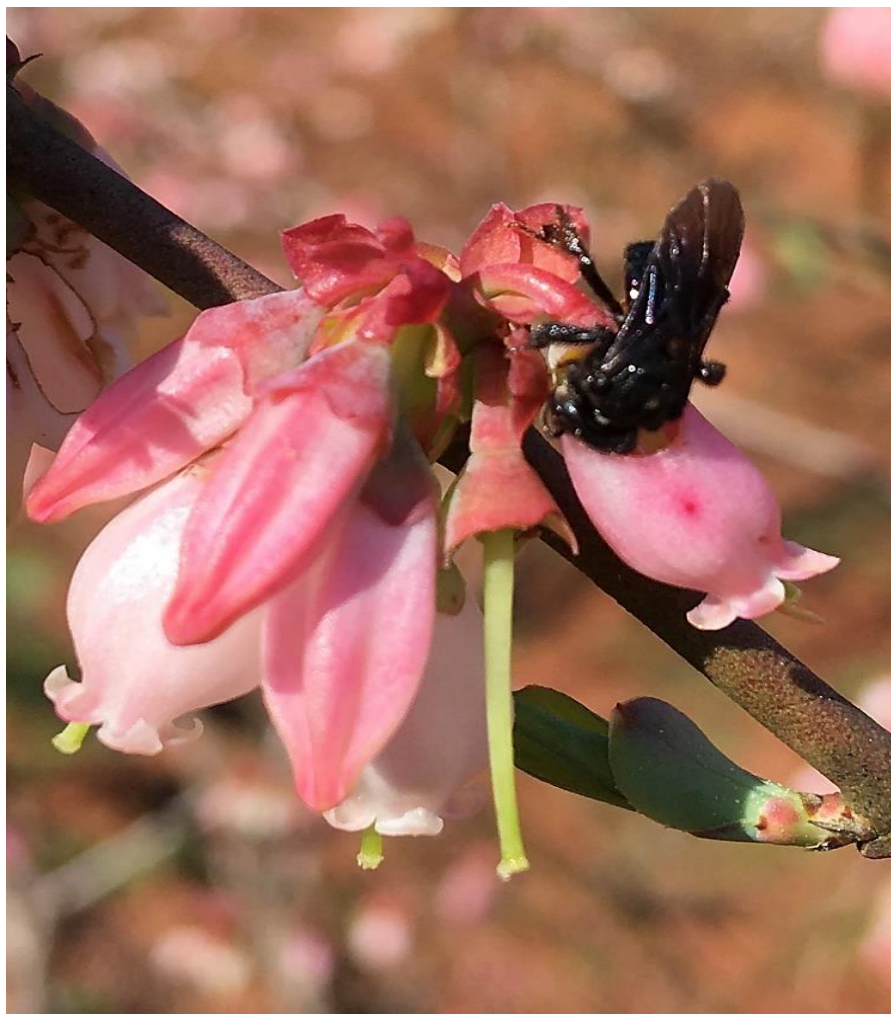
Sezerino, A. A. (2007). Polinização do mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) (Ericaceae) cultivares Misty e O'neal no município de Itá, Oeste de SC. Trabalho (Conclusão de Curso) – Curso de Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 43.

Silva, C. I., Aleixo, K. P., Nunes-Silva, B., Freitas, B. M., Imperatriz-Fonseca, V. L. (2014). Guia Ilustrado das Abelhas Polinizadoras no Brasil. *Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo e Ministério do Meio Ambiente*, 64, 4.

Shutak, V.G. and Marucci P. E., (1966). Plant and fruit development, 179–198. In: Eck P. and Childers N. F. (eds.). Blueberry culture. *Rutgers Univ. Press*, New Brunswick, N.J.

Wilson, P., Castellanos, M., Hogue, J., Thomson, J., Armbruster, W. (2004). A multivariate search for pollination syndromes among Penstemons. *Oikos* 104, 345–361.

Witter, S., Nunes-Silva, P., Blochtein, B. et al. (2014). As abelhas e a agricultura. *EDIPUCRS*, Porto Alegre. Disponível em: <https://editora.pucrs.br/edipucrs/acessolivre/Ebooks>



**CAPÍTULO 2: O EFEITO DO COMPORTAMENTO DAS ABELHAS DURANTE A
COLETA DE RECURSOS FLORAIS NA POLINIZAÇÃO DE MIRTILO (*Vaccinium
ashei* Reade)**

A formatação segue regras de submissão do Journal of Applied Entomology. Disponível em:
<http://mc.manuscriptcentral.com/jappen>

O EFEITO DO COMPORTAMENTO DAS ABELHAS DURANTE A COLETA DE RECURSOS FLORAIS NA POLINIZAÇÃO DE MIRTILO (*Vaccinium ashei* Reade)

Manoela SANTANNA¹; Patrícia NUNES-SILVA¹; Marcelo ZAGONEL-OLIVEIRA¹

¹Laboratório de Ecologia Espacial, Sala 242 E04, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (Unisinos), São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Resumo: Flores de mirtilo possuem corolas em forma de sino, o néctar é muitas vezes inacessível para polinizadores, que obtêm esse recurso por meio de perfurações na corola. Nosso objetivo foi avaliar o comportamento de coleta de recurso floral entre cultivares e a influência na polinização. Experimentos ocorreram em duas localidades do Rio Grande do Sul (Veranópolis, Guaíba) nas seguintes cultivares: Bluebelle, Bluegem, Britteblue, Clímax, Powderblue, Woodard, Delite. Realizamos observações do comportamento dos visitantes florais durante 1 minuto em cada arbusto (n=3/cultivar) às 11h, 13h e 15, um total de 378 minutos de observação, ou seja, cerca de .6 horas e 30 minutos, durante doze dias. Observou-se o número de roubos de recursos para tal, observamos se a coleta de recurso ocorreu pela perfuração (interpretado como roubo) ou pela abertura floral. Comparamos a porcentagem de roubos (Kruskal-Wallis) nas flores perfuradas e o número de grãos de pólen depositados no estigma (Mann-Whitney), para cada cultivar nas flores que foram perfuradas e não perfuradas. A frequência de roubo pelas abelhas foi semelhante entre as cultivares (p= 0,238). Em Veranópolis, Powderblue, Woodard, Bluebelle e Clímax apresentaram diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma entre flores perfuradas e não perfuradas, sendo o maior número de grãos de pólen no estigma de flores que foram perfuradas na corola, já as cultivares Britteblue e Bluegem não apresentaram diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma entre flores perfuradas e não perfuradas. Em Guaíba, Delite apresentou diferença no número de grãos de pólen no estigma de flores perfuradas e não perfuradas e foi a cultivar que obteve o maior número de grãos de pólen no estigma de flores perfuradas, As cultivares Bluegem e Bluebelle, também avaliadas nesta localidade, não apresentaram diferença no número de grãos de pólen no estigma de flores perfuradas e não perfuradas. Flores roubadas tiveram maior quantidade de grãos de pólen no estigma. Desta forma o roubo parece não prejudicar,

e sim contribuir para a polinização, já que flores perfuradas pelo roubo de néctar apresentaram maior quantidade de pólen no estigma.

Palavras-chave: pólen; néctar; visitantes florais; polinização

Abstract: Blueberry flowers have bell-shaped corollas, the nectar is often inaccessible to pollinators, who obtain this resource through perforations in the corolla. Our objective was to evaluate the floral resource collection behavior between cultivars and the influence on pollination. Experiments took place in two locations in Rio Grande do Sul (Veranópolis, Guaíba) in the following cultivars: Bluebelle, Bluegem, Britteblue, Climax, Powderblue, Woodard, Delite. We carried out observations of the behavior of floral visitors for 1 minute on each bush ($n=3/\text{cultivar}$) at 11:00, 13:00 and 15:00. The number of resource thefts was observed for this, we observed whether the resource collection occurred by perforation (interpreted as theft) or by flower opening. We compared the percentage of robberies (Kruskal-Wallis) in the perforated flowers and the number of pollen grains deposited on the stigma (Mann-Whitney), for each cultivar in the flowers that were perforated and not perforated. The frequency of theft by bees was similar between cultivars ($p=0.238$). In Veranópolis, Powderblue, Woodard, Bluebelle and Climax showed differences in the number of pollen grains deposited in the stigma between perforated and non-perforated flowers, with the largest number of pollen grains in the stigma of flowers that were perforated in the corolla, whereas Britteblue cultivars and Bluegem showed no difference in the number of pollen grains deposited on the stigma between perforated and non-perforated flowers. In Guaíba, Delite showed a difference in the number of pollen grains in the stigma of perforated and non-perforated flowers and it was the cultivar that obtained the highest number of pollen grains in the perforated flower stigma, The cultivars Bluegem and Bluebelle, also evaluated in this location, showed no difference in the number of pollen grains in the stigma of perforated and non-perforated flowers. Stolen flowers had more pollen grains in the stigma. In this way, theft does not seem to harm but contributes to pollination.

Keywords: pollen; nectar; floral visitors; pollination

1 INTRODUÇÃO

A relação planta-polinizador é considerada um mutualismo porque a planta se beneficia do transporte de gametas masculinos realizado pelo polinizador, enquanto o polinizador se beneficia de uma recompensa (néctar, pólen, óleo, fragrância, etc.) (Thomson & Thomson, 1992; Mallof & Inouve, 2000). Polinizadores que roubam o néctar são frequentemente descritos como trapaceiros no mutualismo entre a planta e o polinizador (Darwin 1841, Thompson 1982, Bronstein 1994, Richardson 1995), porque se presume que eles obtêm uma recompensa (néctar) sem fornecer um serviço (polinização) (Maloof & Inouve, 2000). Muitas vezes limites no acesso a recompensas florais podem encorajar o comportamento de roubo de néctar, onde as abelhas acessam as recompensas ilegitimamente através de buracos na corola, geralmente sem remoção ou distribuição de pólen, ou seja sem garantir a polinização (Irwin et al., 2010). A morfologia floral é um exemplo disso, pois tem grande importância na interação entre a planta e o polinizador, porque as características como a forma e o tamanho das flores podem determinar o sucesso desta interação, ou seja, se ocorrerá de fato a polinização (Rech et al., 2014). Isso ocorre porque os visitantes florais apresentam uma diversidade de tamanho corporal e dependendo do tamanho ou forma da flor podem tocar ou não nas estruturas reprodutivas das flores (Silva et al., 2014).

Embora a importância da morfologia floral para as interações entre a planta e o polinizador tenha sido bem estudada em espécies de plantas selvagens, raramente é o foco de estudo para plantas cultivadas, apesar de ter o potencial de impactar a produtividade da colheita. Na maioria dos casos, as variedades cultivadas são o resultado de reprodução seletiva para rendimento em condições ambientais particulares, ou seja são híbridos selecionados a partir da espécie alvo, para melhoramento genético a fim de selecionar características favoráveis para polinização e produção (Evenson & Gollin, 2003), mas essa criação pode, adicionalmente, dar origem a variações na morfologia.

Este é o caso do mirtilo, no qual a variação da forma da flor entre os cultivares acaba impondo limitações ao acesso às recompensas florais, encorajando o comportamento de roubo de néctar através de perfurações na corola, realizados por algumas espécies de abelhas (Irwin et al., 2010; Courcelles et al., 2013). Estas limitações impedem muitas vezes a deposição do pólen no estigma, além disso, o

nectário encontra-se na base do estilete e para alcançá-los, a abelha deve inserir sua língua entre os filamentos (Javorek et al., 2002). Dessa maneira, a morfologia da flor conseqüentemente pode interferir na polinização nas flores de mirtilo (Courcelles et al., 2013; Witter et al., 2014). Comportamentos específicos, como roubo de néctar em cultivares de mirtilo com pequenos diâmetros de corola, podem causar danos à flor e limitar o potencial da flor ser polinizada adequadamente (Courcelles et al. 2013). A produção de frutos de alta qualidade por mirtilos também depende muito das contribuições dos polinizadores para produzir rendimentos economicamente viáveis, com a polinização responsável por 50-66% da produção total de frutas (Fulton et al., 2015; Gibbs et al. 2016; Bobiwash et al., 2017).

Podemos observar alguns exemplos de roubos de néctar, segundo Dedej & Delaplane (2004), no sudeste dos Estados Unidos, *Xylocopa virginica* (L.) (Cane e Payne, 1990) e *Xylocopa micans* (Lepeletier) são visitantes frequentes de pomares comerciais de mirtilo. Ambos se envolvem no roubo de néctar e são considerados polinizadores ineficazes desta espécie nativa do cultivo. Delaplane (1995) documentou que 100% das visitas às flores de mirtilo por ambas as espécies resultam em atos de roubo de néctar. Além disso, os furos de roubo em flores feitos por *X. virginica* e *X. micans* são atraentes para as abelhas, *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, uma espécie comumente introduzida para polinização comercial. Mas estas abelhas são incapazes de fazer furos para roubo, mas visitam prontamente os furos feitos por *Xylocopa* spp. e, portanto, agem como ladrões de néctar secundários (Delaplane e Mayer, 2000). Delaplane (1995) mostrou que 92,3% das abelhas *A. melliferas* foram observadas roubando néctar na presença de *Xylocopa* spp.

Aqui no Rio Grande do Sul no estudo de Silveira et al. (2010) a polinização do mirtilo foi realizada pela abelha *A. mellifera* e pelas mamangavas (*Bombus* sp.). Além destes, *Trigona spinipes* (Fabr. 1793), também conhecida como irapuá, arapuá ou arapuã, uma espécie de abelha-sem-ferrão, pertencente ao grupo dos meliponíneos, é frequentemente encontrada nas flores causando cortes com suas mandíbulas em flores, folhas e cortiça para construir seus ninhos ou para penetrar nos nectários de algumas flores, prejudicando a floração (Nogueira Neto, 1962). Além do mirtilheiro, *T. spinipes*, já foi relatada causando danos em feijão-guandu (*Cajanus cajan* L.), acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), (Alves et al., 1996) e laranjeira (*Citrus* spp.) (Marlerbo-Souza, 1996).

A eficácia da polinização pode variar com base nas diferenças comportamentais que podem afetar a taxa de entrega de pólen às flores e a qualidade do pólen sendo entregue (Herrera 1987, Javorek et al., 2002, Garibaldi et al., 2011). Nossa hipótese neste estudo é que exista diferença no comportamento de coleta de recurso floral entre as cultivares, pelos polinizadores e flores que foram perfuradas roubadas apresentem menos grãos de pólen no estigma, devido a visita ilegítima. Desta forma, nosso objetivo foi avaliar o comportamento de roubo de recurso floral pelas abelhas entre as cultivares de mirtilo e qual a influência que este comportamento pode ter na polinização em *V. ashei* Reade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados primeiramente na FEPAGRO Serra, localizada em Veranópolis – RS, (28°53'26.77"S- 51°32'46.89"O), (Fig.1) durante a floração do mirtilo, a qual ocorre nos meses de agosto a outubro (ANTUNES et al., 2008).

O pomar de mirtilo da FEPAGRO Serra foi implantado durante os anos de 1995 e 1996, tendo entre 22 a 23 anos. A área do pomar é de 12 m por 23 m (0,03 ha) e o espaçamento entre plantas é de 1 m entre filas de 3 m, com cinco arbustos para cada cultivar ao qual foram selecionados três arbustos de cada cultivar para realizar os experimentos. Neste pomar avaliamos 6 cultivares que apresentaram floração (Bluebelle, Bluegem, Britteblue, Clímax, Powderblue, Woodard), no período dos experimentos, que ocorreram entre 19 a 21 de agosto de 2019.

Um segundo período do estudo ocorreu de 02 de setembro a 11 de outubro de 2019, na propriedade rural Granja Santa Inês, localizada em Guaíba – RS, (30°7'49.07"S- 51°25'32.67"O), (Fig.1). Esse pomar de mirtilo foi implementado em 2011 e possui uma área de 6.303 m², onde 3 cultivares, Bluegem, Bluebelle, Delite, apresentaram floração no período de estudo e foram avaliadas. O pomar possui duas linhas de plantio para cada cultivar, com espaçamento de 1 metro, onde foram estabelecidos um transecto de 20 metros para cada linha de plantio.

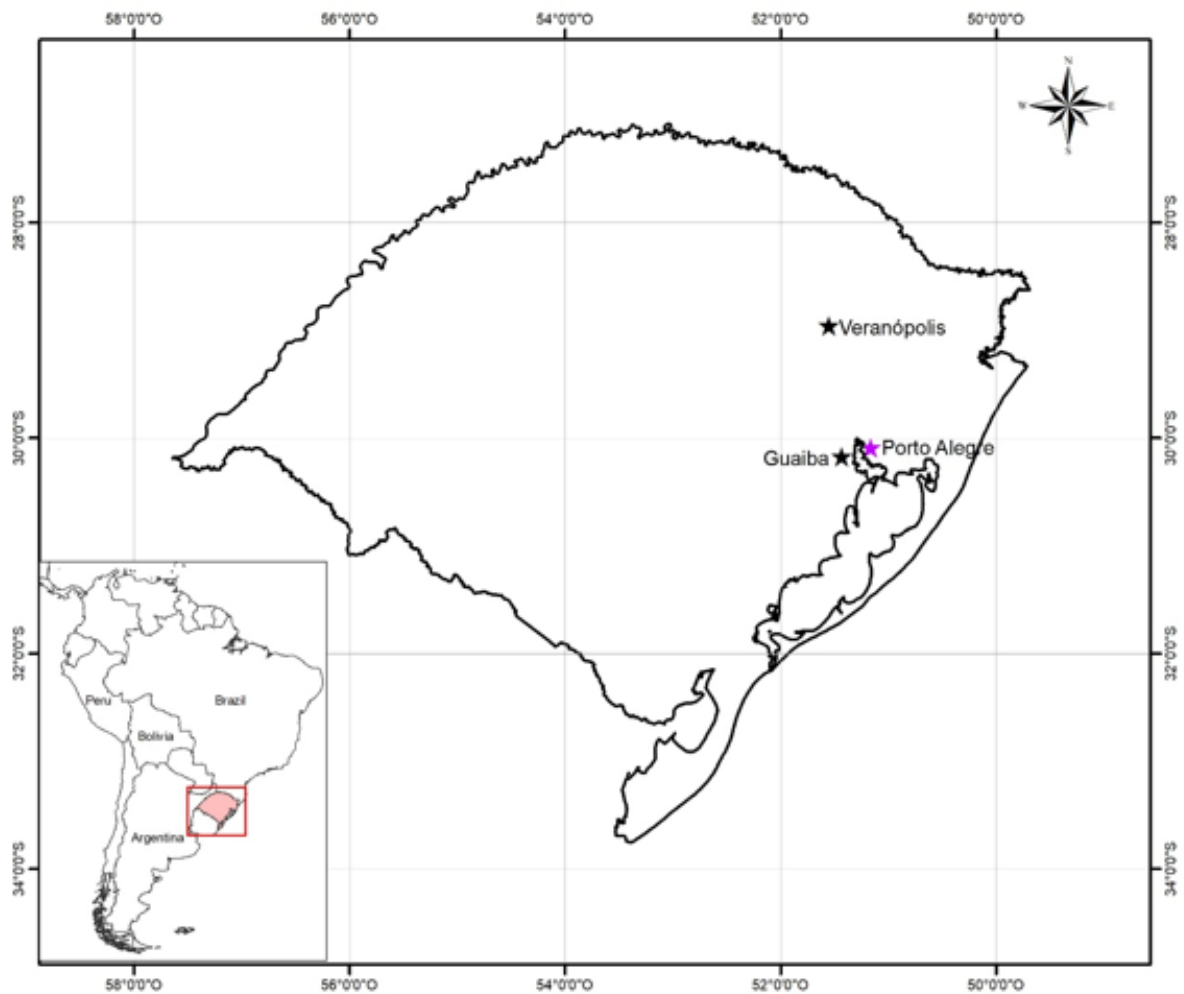


Fig. 1 Mapa de localização: América do Sul destacando o Estado do Rio Grande do Sul em vermelho, mapa do Estado do RS, onde podemos observar a capital Porto Alegre e as localidades do estudo (Veranópolis e Guaíba).

2.1 Observações do comportamento de coleta de recurso floral

Para avaliar o comportamento de coleta de recurso floral, observações foram realizadas em Veranópolis entre 20 e 21 de agosto de 2019, e, em Guaíba nos dias 02, 03, 05, 09, 13, 26 de setembro e 07, 08, 10, 11 de outubro de 2019. Foram dias em que os padrões climáticos favoreciam a atividade dos polinizadores, dias não chuvosos com sol pleno ou parcial, temperaturas acima de 13 °C e vento fraco.

Observamos o comportamento em cada um dos três arbustos de cada cultivar em Veranópolis. Em Guaíba, percorremos todo o transecto estabelecido para cada cultivar. Dois observadores alternavam nas linhas de plantio, para percorrer os dois transectos de cada cultivar ao mesmo tempo. O observador permaneceu um minuto em cada arbusto, as observações ocorreram em três períodos do dia (11h, 13h, 15h), de modo que cada local foi observado tanto pela manhã quanto à tarde, caso houvesse um viés no tempo de atividade do visitante, realizamos um total de 378 minutos de observação, ou seja, cerca de .6 horas e 30 minutos.

. Observamos se as abelhas inseriram a cabeça inteira na flor (interpretado como uma visita legítima) (Fig. 2A), ou se roubaram o néctar inserindo a cabeça entre a corola e o ovário inferior (na perfuração da corola) (Fig. 2B).

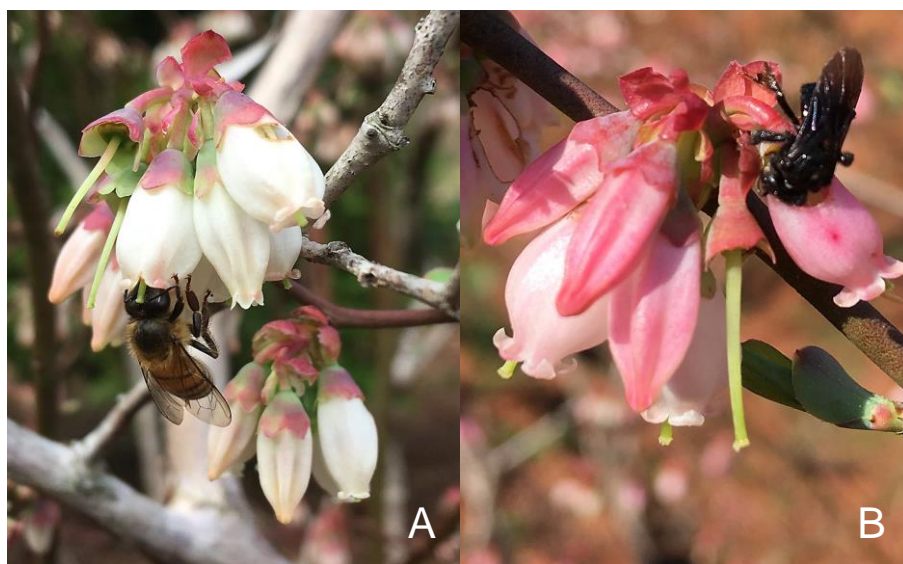


Fig. 2 - Flores de mirtilo *V. ashei*: (A) abelha coletando o recurso pela abertura da corola (B) abelha roubando o recurso pela perfuração na corola. Fonte: fotos de Patrícia Nunes Silva em flor de mirtilo (Guaíba, 2019).

2.2 Avaliação do número de grãos de pólen no estigma em flores perfuradas e não perfuradas

Para avaliar o número de grãos de pólen depositados nos estigmas das flores perfuradas e não perfuradas nos diferentes cultivares, coletamos 30 flores para cada cultivar (15 com perfurações na corola e 15 sem perfurações) em Veranópolis e Guaíba - RS, um total de 270 flores foram coletadas e armazenamos em tubo Falcon 50ml com álcool 70% mantidos no congelador para posterior análise.

Posteriormente, no Laboratório de Histologia da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo – RS, foi realizada a contagem dos grãos de pólen no estigma. Para isso, preparamos gelatina-glicerizada corada com fucsina para fixação dos grãos de pólen e montamos lâminas (Dafni et al., 2005). Após a substância permanecer em refrigerador a lâmina foi aquecida em uma chapa aquecedora em 40°C e foi realizado o corte do estigma e colocado sobre a lâmina e pressionado pela lamínula, em seguida com auxílio de um microscópio óptico contamos o número de grãos de pólen presentes no estigma dos diferentes cultivares.

2.3 Análises

Para todas as análises estatísticas utilizamos o Software R versão 3.1.6. (R Development Core Team, 2020).

Para verificar se existe diferença no comportamento de roubo de recurso floral entre as cultivares nas diferentes localidades, avaliamos a quantidade de flores que foram perfuradas (roubadas) e comparamos a porcentagem de roubos entre as cultivares. Para isso realizamos testes de pressupostos de normalidade e homogeneidade (Shapiro-Wilk; Levene); seguido de Kruskal-Wallis já que dados não atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade.

Para verificar se existe diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma nas flores perfuradas e não perfuradas para cada uma das cultivares, nas diferentes localidades, realizamos os mesmos testes de pressupostos mencionados acima, seguido de Mann-Whitney já que dados não atenderam aos pressupostos.

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação do roubo de recurso floral entre as cultivares

A porcentagem de flores roubadas entre as cultivares avaliadas em Veranópolis não apresentaram diferença para o teste de Kruskal-Wallis ($H= 8.164$; $df = 5$; $p=0.147$), ou seja, as abelhas roubaram o néctar na mesma frequência entre as diferentes cultivares, que apresentaram uma porcentagem de flores roubadas de: Bluebelle (87%); Bluegem (82%); Britteblue (71%); Powderblue (75%); Woodard (89%), Clímax (73%). Assim como as cultivares avaliadas na localidade de Guaíba, a porcentagem de flores roubadas foi de: Bluebelle (94%); Bluegem (92%); Delite (95%) e não apresentaram diferença para o teste de Kruskal-Wallis ($H= 5.119$; $df = 2$; $p= 0.07$).

3.2 Avaliação do número de grãos de pólen em flores (perfuradas e não perfuradas na corola) para cultivares em Veranópolis

As seguintes cultivares apresentaram diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma entre flores perfuradas e não perfuradas na corola, Powderblue ($U = 54$; $df = 1$; $p = 0.001$); Woodard ($U = 64$; $df = 1$; $p = 0.04$); Bluebelle ($U= 39$; $df = 1$; $p = 0.002$) e Clímax ($U = 20$; $df = 1$; $p = 0.001$). Todas apresentaram maior número de grãos de pólen no estigma de flores com perfurações na corola, ou seja, flores que foram roubadas (Tabela 1). As seguintes cultivares não apresentaram diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma de flores perfuradas e não perfuradas na corola Bluegem ($U = 130$; $df= 1$; $p = 0.467$); Britteblue ($U = 73$; $df = 1$; $p = 0.105$), (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores da mediana (mm), para dados do número de grãos de pólen nas flores de *V. ashei*, em Veranópolis-RS

Cultivar	Flores sem perfuração	Flores perfuradas
Powderblue	7 a	30 b
Woodard	10 a	23 b
Bluebelle	2 a	22 b
Clímax	2 a	32 b
Britteblue	15 a	32 a
Bluegem	15 a	31 a

Nota: cultivares que apresentaram diferença no número de grãos de pólen entre flores sem perfuração e perfuradas indicadas com letras minúsculas distintas na mesma linha e letras iguais na mesma linha não há diferença significativa.

3.3 Avaliação do número de grãos de pólen em flores (perfuradas e não perfuradas na corola) para cultivares em Guaíba

A seguinte cultivar apresentou diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma entre flores perfuradas e não perfuradas na corola, Delite ($U = 5$; $df = 1$; $p = 0.001$) e obteve o maior número de grãos de pólen no estigma de flores com perfurações na corola, ou seja, flores que foram roubadas (Tabela 2). As seguintes cultivares não apresentaram diferença no número de grãos de pólen depositados no estigma de flores perfuradas e não perfuradas na corola, Bluegem ($U = 86$; $df = 1$; $p = 0.279$) e Blubelle ($U = 111$; $df = 1$; $p = 0.965$), (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores da mediana (mm), para dados do número de grãos de pólen nas flores de *V. ashei*, em Guaíba- RS

Cultivar	Flores sem perfuração	Flores perfuradas
Delite	2 a	60 b
Bluebelle	8 a	10 a
Bluegem	8 a	10 a

Nota: cultivares que apresentaram diferença no número de grãos de pólen entre flores sem perfuração e perfuradas indicadas com letras minúsculas distintas na mesma linha e letras iguais na mesma linha não há diferença significativa.

4 DISCUSSÃO

Os resultados apontaram que grande parte das visitas foram ilegítimas, ou seja, as abelhas roubaram o recurso da mesma forma e não houve diferença nesse comportamento entre as cultivares. No pomar em Veranópolis os visitantes roubaram o recurso (87%) em Bluebelle; (82%) Bluegem; (71%) Britteblue; (75%) Powderblue; (89%) Woodard, (73%) Clímax, durante as visitas. No pomar de Guaíba os visitantes roubaram o recurso (94%) em Bluebelle; (92%) Bluegem; (95%) Delite, durante as visitas. Nos pomares que avaliamos as abelhas foram um dos visitantes mais comuns do mirtilo Rabbiteye, elas frequentemente roubaram as flores. Observamos *Trigona spinipes* cortando as flores como observado em Silveira et al. (2010), mas em nossas observações outras espécies de visitantes cortaram as corolas das flores de mirtilo, vespas do gênero *Brachygastra* e formigas da família Formicidae.

Todas as cultivares que apresentaram diferença no número de grãos de pólen no estigma Powderblue, Woodard, Bluebelle, Clímax em Veranópolis e Delite em Guaíba, obtiveram maior número de grãos de pólen depositados no estigma de flores que foram roubadas (Tabela 1 e 2). Este comportamento de roubo de recurso floral muitas vezes foi considerado ineficaz para polinização de mirtilo (Cane & Payne, 1993). Assim como em Bobiwash et al. (2018), concluíram que a eficácia da polinização pode variar com base nas diferenças comportamentais que afetam a taxa de entrega de pólen às flores e a qualidade do pólen sendo entregue (Herrera 1987, Javorek et al., 2002, Garibaldi et al., 2011). Segundo Courcelles et al. (2013), citado por Bobiwash et al. (2018) comportamentos específicos, como roubo de néctar em cultivares de mirtilo highbush que apresentaram pequenos diâmetros de corola, podem causar danos à flor e limitar o potencial dela ser polinizada adequadamente. Mas em nossos resultados observamos que um maior número de grãos de pólen estão presentes nos estigmas de flores que foram roubadas, o que não era esperado pela nossa hipótese, ou seja de alguma forma este comportamento está contribuindo com a polinização do mirtilo, um resultado muito surpreendente que pode indicar que visitantes ilegítimos podem estar contribuindo a polinização através das perfurações.

Para Maloof & Inoué (2000) não se deve presumir automaticamente que o roubo de néctar pode ser sinônimo de um efeito negativo na polinização do mirtilo. Em muitos casos, os polinizadores que roubam as flores também as polinizam, pois esse comportamento pode ter um efeito indireto sobre o comportamento dos

polinizadores legítimos e, em algumas circunstâncias, a mudança no comportamento do polinizador pode resultar em melhor aptidão por meio do aumento do fluxo de pólen e cruzamento. Para Tucker et al (2019) as escolhas de forrageamento pelo polinizador podem não estar diretamente relacionadas somente com a morfologia da flor mas com um conjunto de características que incluem desde de a morfologia floral, assim como a atração por certos cultivares, que por sua vez pode resultar de diferenças no volume do néctar, concentração de açúcar do néctar, pólen ou cor e aromas da flor.

Como observamos em Rodriguez-Saona et al. (2011), citado por Tucker et al. (2019) em seu estudo selecionaram e ensacaram parte das flores de mirtilo (excluindo polinizador) e parte não foram ensacadas (polinização aberta) para medir os voláteis emitidos, principalmente das pétalas, e as visitas das abelhas a cada tratamento. Eles descobriram que as flores excluídas do polinizador emitem uma quantidade 46% maior de voláteis do que as flores de polinização aberta, o que sugere que a polinização teve um efeito significativo nas emissões de voláteis. Eles também descobriram que, após a remoção da rede de exclusão, que as abelhas *A. melliferas* e os zangões visitaram aproximadamente duas vezes mais flores nos arbustos previamente excluídos do polinizador em comparação com as visitas aos arbustos previamente polinizados. As plantas com flores fornecem nutrientes e sinais de odores para atrair os polinizadores para visitá-las minimizando o investimento nesses sinais. Os polinizadores, por outro lado, maximizam sua absorção nutricional das flores, determinando rapidamente quais flores os recompensam com pólen e / ou néctar.

Rodriguez-Saona et al. (2011) também levantaram a hipótese de que uma diminuição nas emissões de odores florais após a polinização pode ser adaptativa tanto para conservar os custos de produção de odores quanto para reduzir a probabilidade de atrair polinizadores.

Richardson (2004) também descobriu que em alguns dias o roubo beneficiava a planta por meio do aumento da dispersão de pólen e em alguns dias não favorecia. Heinrich e Raven (1972) também postularam que, com base energética, polinizadores legítimos podem ser forçados a visitar mais flores quando menos néctar permaneceu por flor após o roubo, o que pode aumentar ainda mais a deposição de grãos de pólen no estigma das flores.

No entanto, em Tucker et al. (2019) diferentes cultivares receberam os maiores níveis de corte na corola em diferentes anos e confirmam que fatores além das

características morfológicas de cada cultivar influenciam o corte da corola por algumas espécies de polinizadores. Por exemplo, as diferenças anuais no clima durante o pico da floração das diferentes cultivares podem afetar a atividade de corte da corola, pois dependendo da cultivar, e do acúmulo de horas de frio do local e do ano de avaliação, o período de florescimento pode variar e se a floração for antecipada pelo acúmulo maior de frio, este período pode não ser compatível, com o período de alimentação e ciclo de vida de alguns polinizadores que muitas vezes apresentam limitações a temperaturas muito baixas.

Os polinizadores mais eficazes, os *Bombus sonorus* Say, por exemplo, gastaram menos tempo (embora não seja significativo) em flores roubadas do que em flores sem roubo, mas não depositaram menos grãos de pólen durante as visitas mais curtas. O sucesso reprodutivo da flor (frutificação e número de tubos polínicos crescendo no estilete) não foi afetado pelo roubo. Assim como observamos em nosso estudo, as cultivares cujo as flores foram roubadas, tiveram o maior número de grãos de pólen no estigma. Desta forma estes fatores mencionados acima podem ser uma explicação para esse resultado, já que um conjunto de fatores além da morfologia podem afetar diretamente a escolha de forrageamento do polinizador.

Sampson et al. (2004) descobriram que o roubo de néctar por abelhas carpinteiras contribuiu com 40 tétrades por estigma no mirtilo Rabbiteye e aumentou a eficácia da polinização do roubo subsequente por *A. mellifera* (Tucker et al., 2019). Em nosso estudo, abelhas carpinteiras como *Xylocopa* spp., apresentaram uma frequência de visitas muito baixa, mas em contrapartida *A. mellifera* foi a espécie com maior frequência (resultados ainda não publicados), o que pode ter favorecido na deposição complementar de pólen nos estigmas.

No presente estudo, concluímos que a alta frequência de roubo de néctar pode estar associada com a densidade populacional de visitantes como *T. spinipes* e vespas do gênero *Brachygastra* já que frequentemente as observamos cortando as corolas das flores de mirtilo, o que resultou em um grande número de corolas perfuradas, estes visitantes são conhecidos por realizar cortes nas corolas das flores (Silveira et al. 2010). Esse comportamento possibilitou que visitantes e polinizadores tivessem acesso ao néctar de forma ilegítima em grande parte das visitas. Desta forma, sugerimos que a partir destes resultados, seria importante avaliar o comportamento das abelhas em outras áreas de plantio de mirtilo sem a presença de

T. spinipes, a fim de complementar nossos estudos, pois poderíamos investigar mais detalhes das interações comportamentais das abelhas com flores de mirtilo e também nos possibilitaria destacar características que determinam as preferências das abelhas por diferentes cultivares.

REFERÊNCIAS

- Aronne, G., Giovanetti, M., Guarracino, M. R., De Micco, V. (2012). Foraging rules of flower selection applied by colonies of *Apis mellifera*: ranking and associations of floral sources. *Funct. Ecol.* 26, 1186–1196. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2012.02017.x
- Antunes, L. E. C., Gonçalves, E. D., Ristow N. C. et al. (2008). Fenologia, produção e qualidade de frutos de mirtilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43,1011–1015. DOI:10.1590/S0100-204X2008000800009
- Bobiwash, K., Uriel, Y. and Elle, E., (2018) Pollen foraging differences among three managed pollinators in the highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) agroecosystem. *J. Econ. Entomol.* 111 , 26–32.
- Bronstein, J. L. (1994). Our current understanding of mutualism. *Quarterly Review of Biology*, 69, 31–51.
- Cane, J., H. & Payne, J., A. (1993). Regional, annual, and seasonal variation in pollinator guilds: intrinsic traits of bees (Hymenoptera: Apoidea) underlie their patterns of abundance at *Vaccinium ashei* (Ericaceae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 86, 577–588.
- Courcelles, D. M., Button, M. L. & Elle, E. (2013) Bee visit rates vary with floral morphology among highbush blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal Applied Entomology*, 137, 693-701. DOI: 10.1111/jen.12059
- Dafni, A., P., Kevan, G. and Husband, B. C. (2005). Practical pollination biology. *Enviroquest*, Canada.
- Dedej, S., and K. S. Delaplane. 2004. Nectar-robbing carpenter bees reduce seed-setting capability of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in rabbiteye blueberry, *Vaccinium ashei*, 'Climax'. *Environ. Entomol.*, 33, 100–106.

Delaplane K. S. & Mayer D. F., (2000). *Crop Pollination by Bees*. CABI Publishing, Wallington, UK.

Delaplane, K. S. (1995). Bee foragers and their pollen loads in South Georgia rabbiteye blueberry. *Am. Bee J.* 135: 825–826.

Darwin, C. (1841). Humble-Bees. 142–145 in Barrett P. H. *The collected papers of Charles Darwin*, 1. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.

Evenson, R., Gollin, D. (2003). *Crop variety improvement and its effect on productivity: the impact of international agricultural research*. CABI Publishing, Cambridge.

Fulton, M., Jesson, L. K., Bobiwash, K., Schoen, D.J. (2015). Mitigation of pollen limitation in the lowbush blueberry agroecosystem: effect of augmenting natural pollinators. *Ecosphere*, 6, 1-19.

Gibbs, J., Elle, E., Bobiwash, K., Haapalainen, T. & Isaacs, R. (2016). Contrasting pollinators and pollination in native and non-native regions of highbush blueberry production. *Plos One*, 11, 0158937. DOI:org/10.1371/journal.pone.0158937

Garibaldi, L. A. et al. (2011). Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecol. Lett*, 14, 1062–1072.

Herrera C. M. (1987). Components of Pollinator "Quality": Comparative Analysis of a Diverse Insect Assemblage, *Oikos*, 50, 79-90. DOI: 10.2307/3565403

Heinrich, B., and Raven. P. H. (1972). Energetics and pollination ecology. *Science* 176, 597–602.

Irwin, R. E., Bronstein, J. L., Manson, J. S., Richardson, L. (2010). Nectar robbing: ecological and evolutionary perspectives. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 41, 271–292.

Javorek, S. K., Mackenzie, K. E. & Vander-Kloet S. P. (2002). Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on lowbush blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 95, 345–351.

Maloof, J. E. and Inouye D. W. (2000). Are nectar robbers cheaters or mutualists? *Ecology*, 81, 2651-2661.

Malerbo-Souza, D. T. (1996). Efeitos de atrativos e repelentes sobre o comportamento forrageiro da abelha *Apis mellifera*, 119, Tese (Doutorado) - *Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias*, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Nogueira-Neto, P. (1962). The scutellum nest structure of *Trigona spinipes* (Fabr., 1793) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of New York Entomological Society*, New York, 70, 239-264.

R Core Team (2020). R: A Language and environment for statistical computing. Foundation R for Statistical Computing, Viena, Austria. Access in: <https://www.R-project.org/>.

Rodriguez-Saona, C., Parra L., Quiroz A., and Isaac R. (2011). Variation in highbush blueberry floral volatile profiles as a function of pollination status, cultivar, time of day and flower part: implications for flower visitation by bees. *Annals of Botany*, 107, 1377–1390. DOI:10.1093/aob/mcr077

Rech, A. R., Westerkamp, C. (2014). Biologia da polinização: uma síntese histórica. In: Rech A. R, Agostini, K., Oliveira, P. E., Machado, I. C. *Projeto Cultural*, 27–43.

Richardson, S. C. (2004). Are nectar-robbers mutualists or antagonists? *Oecologia*, 139, 246–254.

Richardson, S. C. (1995). Temporal variation in pollinator abundance and pollinator foraging behavior in response to robbed flowers. 311–316 in DeBano L. F., Ffolliatt P. F., Ortega-Rubio A., Gottfried G. J., Hamre R. H., and Edminster C. B., coordinators.

Biodiversity and management of the madrean archipelago, the sky islands of the southwestern United States and northwestern Mexico. Tucson, Arizona, USA, 19–23 September 1994. U.S. Forest Service General Technical Report RM-GTR-264.

Silva, C. I., Aleixo, K. P., Nunes-Silva, B., Freitas, B. M., Imperatriz-Fonseca, V. L. (2014). Guia Ilustrado das Abelhas Polinizadoras no Brasil. *Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo e Ministério do Meio Ambiente*, 64, 4.

Silveira T. M. I., Raseira B. C. M., Nava E. D., Couto M. (2010). Influência do dano da abelha-irapuá em flores de mirtilheiro sobre a frutificação efetiva e as frutas produzidas. *Rev. Bras. Frutic*, 32, 303-307.

Sampson, B. J., Danka R. G. and Stringer S. J. (2004). Nectar robbery by bees *Xylocopa virginica* and *Apis mellifera* contributes to the pollination of rabbiteye blueberry. *J. Econ. Entomol.* 97, 735–740.

Tucker S. K Ginsberg H. S., and Alm S. R. (2019). Effect of Corolla Slitting and Nectar Robbery by the Eastern Carpenter Bee (Hymenoptera: Apidae) on Fruit Quality of *Vaccinium corymbosum* L. (Ericales: Ericaceae) *Environmental Entomology*, 48, 718–726 DOI: 10.1093/ee/nvz055

Thomson, J. D., and Thomson B. (1992). Pollen presentation and viability schedules in animal-pollinated plants: consequences for reproductive success. 1–24 in Wyatt, R. *Ecology and evolution of plant reproduction*. Chapman and Hall, New York, New York, USA.

Thompson, J. N. (1982). Interaction and coevolution. John Wiley, New York, USA.

Witter, S., Nunes-Silva, P., Blochtein, B. et al. (2014). As abelhas e a agricultura. *EDIPUCRS*, Porto Alegre. Disponível em: <https://editora.pucrs.br/edipucrs/acessolivre/Ebooks>