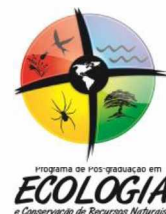




UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de
Recursos Naturais



Serviços de Polinização e Manejo de Polinizadores do Maracujá-Amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger)



Camila Nonato Junqueira

2016

Camila Nonato Junqueira

**Serviços de Polinização e Manejo de Polinizadores do
Maracujá-Amarelo**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Uberlândia como parte das exigências
para obtenção do título de Doutora em
Ecologia e Conservação de Recursos
Naturais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Solange Cristina
Augusto

Uberlândia - MG
Fevereiro, 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

J95s
2016 Junqueira, Camila Nonato, 1987
 Serviços de polinização e manejo de polinizadores do Maracujá-
 Amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger) / Camila Nonato
 Junqueira. - 2016.
 135 f. : il.

 Orientadora: Solange Cristina Augusto.
 Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
 de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.
 Inclui bibliografia.

 1. Ecologia - Teses. 2. Abelha - Ecologia - Teses. 3. Polinização -
 Teses. 4. Maracujá-amarelo - Teses. I. Augusto, Solange Cristina. II.
 Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
 Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. III. Título.

CDU: 574

Camila Nonato Junqueira

Serviços de Polinização e Manejo de Polinizadores do Maracujá-Amarelo

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Aprovada em 29 de Fevereiro de 2016.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Kátia Sampaio Malagodi Braga
Embrapa Meio Ambiente

Prof^a. Dr^a. Márcia Motta Maués
Embrapa Amazônia Oriental

Prof^a. Dr^a. Fernanda Helena Nogueira-Ferreira
Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira
Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Prof^a. Dr^a. Solange Cristina Augusto
Orientadora – Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Uberlândia – MG.
Fevereiro, 2016

*Where you invest your love,
you invest your life*

Awake my soul - Mumford and Sons

Dedico esse trabalho à minha **família**
que me apoiou incondicionalmente e
soube reconhecer a importância
desse objetivo na minha vida.

Agradecimentos

Agradecer é reconhecer que eu precisei de alguém. E eu precisei de cada uma das pessoas e instituições que participaram dessa empreitada comigo.

À Universidade Federal de Uberlândia e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais e seus professores pelo apoio e estrutura para a realização desse trabalho e, especialmente, à Maria Angélica que, com sua simpatia e atenção, sempre esteve à disposição para qualquer dúvida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio financeiro durante a execução do projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa durante parte do meu doutorado.

Ao engenheiro agrônomo Pedro Gregol da Empresa Brasileira de Bebidas e Alimentos (Ebba), pelo apoio e auxílio na seleção das áreas de estudo em Araguari – MG e aos produtores de maracujá-amarelo de Araguari- MG pela confiança e por cederem suas propriedades para a execução do trabalho.

Ao Francisco Célio de Assis, responsável pela Fazenda Experimental Água Limpa (Universidade Federal de Uberlândia) pela prontidão e auxílio na manutenção dos abrigos de abelha.

À Escola Técnica de Saúde (ESTES) da Universidade Federal de Uberlândia pela disponibilização da infraestrutura para a realização das análises químicas e ao professor Dr. Douglas Queiroz Santos pela amizade e pelos conselhos valiosos acerca da caracterização química dos frutos e sobre a vida profissional.

Aos professores Dr^a. Márcia Maués; Dr^a. Katia Malagodi-Braga, Dr^a. Fernanda Nogueira-Ferreira e Dr. Paulo Eugênio A. M. de Oliveira por aceitarem o convite para participarem da banca de defesa.

À professora Dr^a. Solange C. Augusto pela orientação nos últimos nove anos e pela amizade construída ao longo dessa caminhada. Muito obrigada por ter sido meu norte pessoal e profissional todas as vezes que eu precisei!

A todos os meus amigos do Laboratório de Ecologia e Comportamento de Abelhas (LECA), Amanda, Ana Luisa, Arthur, Bruno, Isabel, Jaqueline, LÍlian, Maíra, Thayane e Thiago pela troca saudável de experiências e pela ajuda em todas as etapas do trabalho. À Vanessa e ao Luis Paulo por terem tornado a pós-graduação bem mais agradável.

À Laíce Rabelo pela amizade e ajuda em várias etapas do trabalho e, principalmente, por dividir comigo todas as loucuras de finalizar uma tese de doutorado! Muito obrigada Laíce!

Ao Pablo, Núbia e Roberta por terem sido os melhores amigos de graduação que alguém poderia ter e por terem me inspirado a continuar na vida acadêmica.

À Marcela Yamamoto por ter sido umas das minhas 'mentoras' nesse ramo da polinização do maracujá e por sempre ter uma palavra de ânimo e encorajamento durante toda essa jornada.

Aos meus amigos que não entendiam nada de abelha e mesmo assim me ouviam com toda a paciência e curiosidade de mundo. Muito obrigada Natália, Daniel, Mariana e Ludmila!

À minha família, que apesar da estrutura peculiar, é movida pelo amor e companheirismo. Ao meu pai, minha mãe, minha avó e meus padrinhos por acreditarem nas minhas decisões e por estarem presentes em cada passo da minha trajetória.

À minha irmã Santusa, que mesmo distante algumas centenas de quilômetros, se faz presente no meu dia a dia e não me deixa desanimar de nada. Muito obrigada por ter compartilhado todas as minhas alegrias e inseguranças e por ter acreditado nessa jornada maluca que é a pós-graduação.

À Bruna, melhor companheira que a vida podia ter me dado! Muito obrigada por dividir sua vida comigo! Obrigada também pelo apoio e paciência nos últimos meses, pela leitura cuidadosa de várias partes desse trabalho e por constantemente acreditar em mim! Te amo!

E, por fim, agradeço a Deus, força que mantém e renova continuamente a vida.

ÍNDICE

Lista de Tabelas.....	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
Introdução Geral	1
Serviços de polinização e manejo de polinizadores.....	1
Declínio de polinizadores.....	3
Abelhas do gênero <i>Xylocopa</i> e polinização do maracujá-amarelo	6
Objetivos e Apresentação da Tese.....	10
Referências Bibliográficas	11
Capítulo 1	18
Using meta-analysis to compare the contribution of <i>Apis</i> and non-<i>Apis</i> bees to crop production	18
Supplement material	40
References - Supplement material.....	42
Capítulo 2	45
Bigger and Sweeter Passion Fruits: effect of pollinators' enhancing on fruit production and quality	45
Abstract.....	46
Introduction.....	47
Material and Methods	50
Study areas.....	50
Procedures	50
Pollinator enhancement experiment	50
Pollinator and thieves densities	51
Passion fruit production and quality	52
Data analysis	53

Results.....	53
Effect of pollinator enhancement on the pollinator and thieves densities	53
Effect of pollinator enhancement on fruit production and quality.....	54
Discussion	57
References.....	60
Capítulo 3	66
Effect of nest management on niche food breadth of <i>Xylocopa frontalis</i>	66
Abstract.....	67
Introduction.....	68
Material and methods.....	70
Study areas.....	70
Nest management and sample collection of larval food	70
Pollen analysis	71
Statistical Analysis	72
Results.....	73
Discussion	78
References.....	81
Considerações Finais	86
Anexo.....	89

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figure 1. Hedges' d weighted mean effect sizes and 95 % bias-corrected confidence intervals of crop production by *Apis mellifera* and non-*Apis* (social native bees and solitary bees) in crops with high/essential pollination dependence (A); modest pollination dependence (B) and little pollination dependency (C).

Figure 2. Hedges' d weighted mean effect sizes and 95 % bias-corrected confidence intervals of crop production by social native bees, solitary bees and *Apis mellifera* in crops with high/essential pollination dependency (A); modest pollination dependency (B) and little pollination dependency (C).

Capítulo 2

Figure 1. Average density (\pm SE) of pollinators (*X. frontalis* and *X. grisescens*) and thieves (*A. mellifera* and stingless bee species) calculated by visitation rate before and after pollinator enhancement in all study areas (A and B: Low Pollination Deficit Areas; C and D: High Pollination Deficit Areas). Superscript letters indicate equality or difference between sample means.

Figure 2. Increment of fruit set percentage assessed by natural pollination (percentage of fruit set) before and after pollinator enhancement in five study areas of passion fruit crop located in Uberlândia and Araguari - MG (A: Low Pollination Deficit areas; B: High Pollination Deficit areas).

Figure 3. Correlation between the percentage of natural fruit set and pollinator density (A: $r_s=0.74$, $df=30$; $p=0.002$) and the percentage of natural fruit set and thieves density (B: $r_s=-0.36$, $df=30$; $p=0.001$) in five passion fruit crops.

Figure 4. Physical and chemical characteristics of fruits from natural pollination treatment before pollinator enhancement (NP-BPE; $n=48$) and after pollinator enhancement (NP-APE; $n=49$) in five passion fruit crop areas.

Capítulo 3

Figure 1. Pollen types used by *Xylocopa frontalis* in the breeding and crop areas. **A:** sp. 1 (Anacardiaceae); **B:** sp. 2 (Anacardiaceae); **C:** *Cordia* sp.; **D:** *Caryocar brasiliense*; **E:** *Euphorbia* sp.; **F:** *Senna* sp.; **G:** *Lafoensia* sp.; **H:** *Marcetia* sp.; **I:** sp. 3 (Myrtaceae); **J:** *Solanum* sp.; **K:** *Vochysia* sp.; **L:** sp. 4; **M:** sp. 5; **N:** sp. 6. Black bar represents 50 μ m.

Figure 2. *Turnover* of pollen sources used by *Xylocopa frontalis* between the breeding area and the crop areas (A₁ and A₂). White rectangles represent exclusive species in the breeding area and crop areas (Crop areas - A₁: with rectangles 8 to 11 and A₂: with rectangle 12 to 15). Black rectangles represent common species between the breeding area and crop areas **(A)**. Abundance of pollen grains in the breeding area **(B)** and in the crop areas A₁ **(C)** and A₂ **(D)**.

Anexo

Figura 1. Flor de maracujá-amarelo com indicações da estrutura masculina (anteras), grãos de pólen na antera, disco nectarífero e estrutura feminina (estigmas).

Figura 2. Esquema de transferência de grãos de pólen entre flores de plantas diferentes.

Figura 3. Flor do maracujá-amarelo quando não polinizada **(A)** e quando polinizada **(B)**.

Figura 4. Visão lateral e frontal de *Xylocopa frontalis* **(A1 e A2)** e de *Xylocopa grisescens* **(B1 e B2)**.

Figura 5. Visão frontal e lateral da abelha europa (*Apis mellifera*) **(A1 e A2)** e a Irapuá (*Trigona spinipes*) **(B1 e B2)**.

Figura 6. Abelha Europa coletando néctar **(A)** e pólen **(B)** em flores de maracujá-amarelo.

Figura 7. Ninho aberto de mamangava em gomo de bambu com indicação das células de cria com imaturos (larvas e pupas).

Figura 8. Macho de mamangava **(A)** e fêmea de mamangava **(B)** polinizando efetivamente flores de maracujá-amarelo.

Figura 9. Estrutura do abrigo de abelha, confeccionado para manutenção e proteção dos ninhos de mamangavas em áreas de cultivo de maracujá-amarelo **(A)**: Parte superior do abrigo de abelhas confeccionada com estrutura metálica; **(B)**: Suporte confeccionado com madeira e **(C)**: Abrigo de abelhas com cobertura plástica e tijolos para suporte dos ninhos-armadilha.

Figura 10. (A): Ninhos-armadilha confeccionados com gomos de bambu fechados na extremidade pelo próprio nó e dispostos em tijolo do tipo 'baiano' **(B)**: Tronco de madeira de Tulipa Africana (*Spathodea campanulata*).

Figura 11. Modelo de crescimento de ninhos de mamangava ao longo do ano.

Figura 12. Método utilizado para verificar a presença de células de cria em ninhos de mamangavas. Situação 1: Ninho sem célula de cria – comprimento do palito de madeira **(A)** é igual ao comprimento total do ninho-armadilha **(B)**. Situação 2: Ninho com célula de cria - comprimento do palito de madeira **(A)** é menor do que o comprimento total do ninho-armadilha **(B)**.

Figura 13. Lobeira (*Solanum* sp.) **(A)** e flor de Lobeira **(B)**; Fedegoso (*Senna* sp.) **(C)** e flor de fedesogo **(D)**; Roxinha (*Fridericia* sp.) **(D)** e flor de Roxinha **(E)** e Cipó Uva (*Serjania* sp.) **(F)** e flor de Cipó Uva **(G)**.

Figura 14. Flores de maracujá-amarelo marcadas com fitilhos coloridos **(A)** e fruto formado a partir de flor marcada e polinizada naturalmente **(B)**.

Figura 15. Método para avaliação de porcentagem de polinização natural.

Figura16. Etapa para fazer a polinização cruzada **(A)** coletar o pólen das anteras de uma flor, **(B)** em outra flor, tocar nos estigmas para transferir o pólen e nesta mesma flor **(C)** tocar nas anteras para coletar o pólen para a próxima flor.

Figura 17. Botão floral de maracujá-amarelo antes da abertura da flor.

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Table 1. Data summary gathered in the published studies. Pollinators and crop species, pollination dependency according to Klein et al. (2007), effect size (Hedges' d) and variance of effect size (Variance (d)).

Table 2. Mean effect size for *Apis mellifera* and Non-*Apis* bees according to crops with high/essential, modest and little pollination dependency. Variation in effect sizes between categories (Q_{between}) and P values associated.

Table 3. Mean effect size for *Apis mellifera*, social native bees and solitary bees according to crops with high/essential, modest and little pollination dependency. Variation in effect sizes between categories (Q_{between}) and P values associated.

Supplement material

Table 1. Operational variable for crop production, mean, standard deviation (SD) and sample size of crop production regarding control group (without bee pollination) and experimental group (with bee pollination).

Capítulo 2

Table 1. Location (coordinates), size (hectares), percentage of natural pollination and number of introduced nests in the passion fruit crop areas.

Table 2. Study areas classification (LPD: low pollination deficit; HPD: high pollination deficit), percentage of natural fruit set before (BPE) and after pollinator enhancement (APE) and fruit set percentage.

Table 3. Physical and chemical characteristics of fruits from natural pollination treatment before pollinator enhancement (NP-BPE) and after pollinator enhancement (NP-APE). Superscript letters indicate equality or difference between sample means.

Capítulo 3

Table 1. Pollen types identified in the larval food samples of *Xylocopa frontalis* in the breeding and in yellow passion fruit crop areas. FO: frequency of occurrence, RA: relative abundance, H' : food-niche breadth given by the Shannon-Wiener index, J' : uniformity in the collection of resources calculated by the Pielou index.

RESUMO

Junqueira, Camila Nonato; 2016. Serviços de Polinização e Manejo de Polinizadores do Maracujá-Amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger). Tese de Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG. 135p.

A polinização é um dos principais serviços ecossistêmicos, pois assegura tanto a manutenção da variabilidade genética entre as espécies vegetais, como a produção e a qualidade de diversas culturas agrícolas. As abelhas destacam-se como os principais agentes polinizadores pelo fato dos adultos e das crias dependerem de pólen e néctar para alimentação e, por apresentarem constância floral durante o forrageamento. Dentre as espécies cultivadas, o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener) é autoincompatível e depende de polinizadores do gênero *Xylocopa* para a produção de frutos. Estas abelhas apresentam tamanho e comportamento de forrageamento adequados para a polinização do maracujá-amarelo e grande potencial para o manejo. Considerando a importância dos serviços de polinização e a necessidade de projetar estratégias de mitigação contra déficits de polinização em cultivos de maracujá-amarelo, o objetivo geral da tese é estudar, por meio de diferentes abordagens, os serviços de polinização prestados pelas abelhas e o manejo de polinizadores do maracujá-amarelo, visando o incremento da qualidade e da produção agrícola. A análise de dados, por meio de uma meta-análise, referentes à produção agrícola em cultivos com diferentes de níveis de dependência de polinização, demonstrou uma contribuição similar de abelhas *Apis mellifera* e abelhas nativas na produção agrícola, indicando que o manejo dessas espécies, de acordo com o tipo de cultivo, pode assegurar a manutenção de serviços de polinização. O manejo das espécies solitárias *Xylocopa frontalis* e *X. grisescens* em áreas de cultivo de maracujá-amarelo foi uma ferramenta eficiente para aumentar a densidade desses polinizadores e minimizar o déficit de produção desse cultivo, uma vez que contribuiu para o aumento da produção e da qualidade de frutos. A análise polínica de alimento larval de *X. frontalis*, em áreas de criação desses polinizadores e áreas de cultivo de maracujá-amarelo, demonstrou que esse polinizador apresenta alta plasticidade, indicada pela diferença na amplitude do nicho alimentar e baixa similaridade no uso de fontes de pólen entre as áreas de estudo, confirmando o potencial para o manejo dessa espécie. A conservação de polinizadores é prioritária em um cenário de intensificação de práticas agrícolas combinada com a redução de vegetação natural e, dessa forma, os resultados desse trabalho contribuem para consolidar técnicas de manejo de polinizadores do maracujá-amarelo e a utilização sustentável de espécies do gênero *Xylocopa* para o incremento da qualidade e da produção do maracujá-amarelo.

Palavras-Chave: Abelhas carpinteiras, polinização de cultivos, manejo de abelhas, conservação, nicho alimentar, análise polínica.

ABSTRACT

Junqueira, Camila Nonato; 2016. Pollination service and pollinators' management of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger). Doctoral Thesis in Ecology and Conservation of Natural Resources Federal University of Uberlândia. Uberlândia-MG. 135p.

Pollination is one of the main ecosystem services as it ensures both the maintenance of genetic variability among plant species, and the production and quality of many crops. Bee species stands out as the main pollinators because adults and immatures depend on pollen and nectar as food resource and for presenting floral constancy during foraging. Among crop species, yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener) is a self-incompatible species that depends on large *Xylocopa* bees for fruit production. These bees present appropriate size and foraging behavior for yellow passion fruit pollination and a high potential for management. Considering the importance of pollination services and the need to design mitigation strategies to pollination deficits in yellow passion fruit crop, the overall aim of the thesis is to study, through different approaches, pollination services provided by bees and the pollinator management of yellow passion fruit to increase quality and agricultural production. Data analysis, through a meta-analysis, regarding agricultural production in crops with different pollination dependency levels, demonstrated a similar contribution of *Apis mellifera* and native bees to agricultural production, indicating that the management of these species according to crop type can ensure the maintenance of pollination services. The management of the solitary bees *Xylocopa frontalis* and *X. grisescens* was an efficient technique to minimize pollination deficit in passion fruit crops, as it promoted an increase in pollinator density, a decline in visitation by thieves and a significant increase in the number and quality of fruits. Based on pollen analysis of larval food samples of *X. frontalis* in breeding areas and passion fruit crop areas it was possible to establish the differentiated food niche breath, the low similarity and the shift in pollen sources between the study areas, which suggest that this pollinator species is highly plastic regarding pollen collection and confirming the high potential for the management of this species. The conservation of pollinators is a priority in a scenario of land use intensification combined with the reduction of natural vegetation, therefore, the results of this study contributes to consolidate the management techniques of yellow passion fruit pollinators and the sustainable use of *Xylocopa* bees to increase the quality and agricultural production.

Keywords: Carpenter bees, crop pollination, bee management, conservation, food niche and pollen analysis.

Introdução Geral¹

¹ A formatação dessa seção obedece parcialmente às normas do periódico *Apidologie*.

Introdução Geral

Serviços de polinização e manejo de polinizadores

A polinização é um dos principais serviços ecossistêmicos, pois assegura tanto a manutenção da variabilidade genética entre as espécies vegetais, como a produção e a qualidade de diversas culturas agrícolas (Kremen 2005; Breeze et al. 2011). Tal serviço é imprescindível para assegurar a produção de alimentos e, sua valoração econômica, tem sido amplamente utilizada a fim de evidenciar a necessidade ecológica e econômica da manutenção dos serviços de polinização (Kremen e Ostfeld 2005; Gallai et al. 2009).

Os serviços de polinização também contribuem para o fornecimento de nutrientes essenciais para uma dieta balanceada. Apesar dos alimentos fontes de macronutrientes como mandioca, milho, batata, arroz, trigo e inhame não dependerem de polinização mediada por insetos (Klein et al. 2007), 70% dos cultivos agrícolas fonte de micronutrientes dependem da polinização animal para sua produção, como a vitamina C que, em sua grande maioria, é disponibilizada em alimentos como frutas cítricas e vegetais que dependem de polinização animal (Eilers et al. 2011; Brittain et al. 2014).

As abelhas destacam-se como os principais agentes polinizadores pelo fato dos adultos e das crias dependerem de pólen e néctar para alimentação e, por apresentarem constância floral durante o forrageamento (Rasmussen et al. 2010). A valoração dos serviços ecossistêmicos prestados pelos polinizadores ultrapassa €150 bilhões anuais (Gallai et al. 2009) e outros fatores associados à produção

agrícola, como qualidade de frutos e quantidade de óleo em sementes, os quais conferem um maior valor agregado ao produto, também estão associados à riqueza e abundância de polinizadores (Greenleaf e Kremen 2006; Ricketts 2004).

Os serviços de polinização são prestados por diversas espécies de abelhas nativas e exótica como *Apis mellifera* Linnaeus (Free 1993). *A. mellifera* é uma das espécies mais utilizadas para a polinização de culturas no mundo e estimativas sugerem que seja responsável pela polinização de 80% dos cultivos agrícolas mundiais, incluindo maçã (*Malus domestica* Borkh), mirtilo (*Vaccinium* spp.), melão (*Cucumis* spp.), abóbora (*Curcubita* spp.), alfafa (*Medicago sativa* L) e amêndoas (*Prunus dulcis* Mill) (Faostats 2013).

Abelhas nativas também são consideradas importantes polinizadores de cultivos agrícolas e, a eficácia na polinização de espécies cultivadas, aponta para o uso sustentável dessas espécies (Imperatriz-Fonseca et al. 2006). Abelhas solitárias como *Osmia lignaria propinqua* e *Megachile rotundata* são polinizadores efetivos de maçã (*Malus domestica*) e alfafa (*Medicago sativa*), respectivamente (Kuhn e Ambrose 1984; Bosch e Kemp 2001) e espécies de abelhas sem ferrão como *Melipona quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula* Latreille são polinizadores de berinjela (*Solanum melongena* L.) e morango (*Fragaria x ananassa* Duchesne) (Bispo dos Santos et al. 2009; Malogodi-Braga e Kleinert 2004), respectivamente.

Considerando a produção agrícola, que é beneficiada pela polinização, é notória a existência de uma lacuna de produção, ou seja, uma diferença entre a produção realizada e a produção potencial (Bommarco et al. 2013). Tal lacuna está associada a uma série de fatores estritamente agrícolas (Godfray et al. 2010), no entanto, o declínio de polinizadores assume um papel central, pois compromete

um dos principais serviços ecossistêmicos nos cultivos agrícolas (Garibaldi et al. 2013).

Sob uma perspectiva ecológica, tal declínio pode ser medido relativamente por meio do recebimento inadequado, qualitativa e quantitativamente, de grãos de pólen, o que acarreta na limitação da produção agrícola, exemplificada pela diminuição na produção ou pela diminuição da qualidade da produção, como a má formação de frutos ou redução na quantidade de óleo por sementes (Vaissière et al. 2011). Nesse contexto, o manejo de polinizadores constitui uma ferramenta imprescindível para produção agrícola e, também, como ferramenta de conservação de polinizadores (Garibaldi et al. 2013).

Declínio de polinizadores

O declínio de polinizadores tem contribuído tanto para a redução de populações de *A. mellifera*, quanto de polinizadores nativos, e é causado por uma série de fatores, que incluem intensificação do uso da terra, utilização indiscriminada de agrotóxicos, mudanças climáticas e incidência de vírus e parasitas nas populações (Dupont et al. 2011; Potts et al. 2010; Wilcock e Neiland 2002).

Dentre os fatores que contribuem para o declínio de polinizadores, destaca-se a fragmentação de habitat, que promove uma redução na diversidade e abundância de polinizadores (Ricketts et al. 2008; Winfree et al. 2009), e tem um efeito ainda mais acentuado em populações de polinizadores nativos, que apresentam uma gama limitada de espécies vegetais fontes de pólen e

requerimentos de nidificação específicos, como tecido vegetal seco (Steffan-Dewenter et al. 2005; Pereira e Garófalo 2010).

O declínio de polinizadores evidencia o risco da dependência de um único polinizador para a polinização de cultivos agrícolas, como é o caso de *A. mellifera*, o que coloca em risco a estabilidade da produção de alimentos, pois tais cultivos tornam-se ainda mais vulneráveis ao declínio de polinizadores, o qual é sentido de maneira mais acentuada nessa espécie (Ghazoul 2005; Potts et al. 2010).

Além da vulnerabilidade de cultivos agrícolas, causada pela perda de populações, *A. mellifera* também não é considerada polinizador eficiente de culturas economicamente importantes, devido a barreiras morfológicas de espécies vegetais, como no caso do maracujá-amarelo, que possui uma estrutura floral incompatível com o tamanho das abelhas melíferas (Junqueira et al. 2013), e de barreiras fisiológicas, uma vez que não são capazes de realizar a polinização por vibração em espécies cultivadas que apresentam anteras poricidas, como o tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Bispo dos Santos et al. 2009).

Sendo assim, abelhas nativas tem um papel preponderante na polinização de cultivos, devido a uma maior eficiência de polinização, quando comparadas com a abelha melífera (Garibaldi et al. 2013). Experimentos em cultivos de maçã demonstram que *Bombus* spp. apresenta uma maior deposição de pólen nos estigmas do que *A. mellifera* (Thomson e Goodell 2001) e, em cultivos de mirtilo, *Bombus* spp. e *Andrena* spp. apresentaram uma maior taxa de visitação e produção de frutos do que *A. mellifera* (Javorek et al. 2002).

As abelhas nativas constituem alternativas viáveis para a polinização de cultivos agrícolas e, estudos recentes, indicam que o serviço de polinização

prestado por essas espécies nativas seja mais importante que a polinização por espécies manejadas como *A. mellifera* (Garibaldi et al. 2013).

A polinização por espécies nativas é um serviço ecossistêmico que pode compensar o declínio da população de *A. mellifera*, no entanto, devido a múltiplas pressões antrópicas, como a crescente perda de habitat combinada ao uso intenso de agrotóxicos, culminaram no declínio de população de polinizadores nativos (Garibaldi et al. 2014) e, apesar da discussão acerca da validade e da abrangência desse declínio, é reconhecido que culturas que dependam de polinizadores nativos para uma produção adequada sejam afetadas negativamente (Ghazoul 2005; Steffan-Dewenter et al. 2005).

O comprometimento da manutenção de ecossistemas naturais e agrícolas, devido ao declínio de polinizadores, coloca em risco a produção agrícola e, tal fato, está diretamente associado à insegurança alimentar, ou seja, a falta de disponibilidade e acesso da população aos alimentos, o que, por sua vez, é um problema de ordem política e ambiental (Godfray et al. 2010). Estimativas indicam que há uma crescente população humana, com uma demanda igualmente crescente por alimentos e, previsões sugerem que, para atender tal demanda, será necessário um aumento de 60% da produção de alimentos até 2050 (Bruinsma 2009).

Diante deste cenário, a intensificação ecológica, ou seja, o incremento de serviços ecossistêmicos, como o manejo de polinizadores ao invés da utilização de agrotóxicos ou outras práticas agrícolas intensivas, constitui uma alternativa sustentável para minimizar tal declínio e contribuir para a manutenção e incremento da produção agrícola (Bommarco et al. 2013; Steward et al. 2014).

Diversas espécies de abelhas são manejadas, principalmente *A. mellifera* (Aebi et al. 2012). Dentre as espécies nativas, abelhas do gênero *Bombus* (Apidae)

são amplamente utilizadas na Europa em cultivos fechados (Shipp et al. 1994) e, nos Estados Unidos, espécies de abelhas solitárias do gênero *Osmia* (Megachilidae) são manejadas em cultivos de alfafa (*Medicago sativa* L) e amêndoas (*Prunus dulcis* Mill) (Faostats 2013). Dentre as espécies brasileiras que podem ser manejadas para polinização aplicada destacam-se as espécies solitárias dos gêneros *Xylocopa* (Apidae, Xylocopini), *Centris* (Apidae, Centridini), *Tetrapedia* (Apidae, Tetrapediini) e *Megachile* (Megachilidae, Megachilini). Tais espécies nidificam em cavidades pré-existent, como ninhos-armadilha (Garófalo et al. 2004; Mesquita et al. 2009), substrato viável para o manejo dessas espécies, uma vez que facilita a introdução e a manutenção de ninhos em áreas de cultivo (Freitas e Oliveira-Filho 2001). Dentre as espécies solitárias que nidificam em ninhos-armadilha, as abelhas do gênero *Xylocopa* apresentam potencial uso na polinização aplicada, pois são responsáveis diretas pela polinização de espécies nativas e de espécies cultivadas como o maracujá-amarelo (Oliveira e Gibbs 2000; Silva et al. 2010).

Abelhas do gênero *Xylocopa* e polinização do maracujá-amarelo

O gênero *Xylocopa* Latreille, 1802 (Apidae, Xylocopini) inclui abelhas robustas e de grande porte, com cerca de 4,5 cm de comprimento, com fêmeas apresentando coloração que varia do preto ao azul, sendo que os machos do subgênero *Neoxylocopa* apresentam forte dimorfismo sexual com coloração variando do marrom ao amarelo (Hurd 1978; Gerling et al. 1989). O gênero apresenta maior diversidade nos trópicos e subtrópicos, com 730 espécies descritas, sendo que dessas, 50 ocorrem no Brasil (Silveira et al. 2002).

A maioria das espécies de *Xylocopa* é solitária ou facultativamente social, e constrói ninhos escavando tecidos vegetais secos, tais como árvores ou troncos mortos, caules ocos e gomos de bambu (Camillo 2003; Camillo e Garófalo 1982; Pereira e Garófalo 2010). Estudos sugerem que não há uma afinidade taxonômica por determinados tipos de substratos (Bernardino e Gaglianone 2008), no entanto, fatores como distribuição, abundância e aspectos relacionados à textura e dimensão do substrato de nidificação são mais limitantes na ocorrência das espécies do gênero *Xylocopa*, quando comparados com a distribuição de fontes de pólen e néctar (Gerling et al. 1989).

Em relação ao ciclo de vida, algumas espécies apresentam multivoltismo e são ativas o ano todo, apresentando de quatro a cinco gerações por ano. O período de fundações de novos ninhos de *Xylocopa* spp. está diretamente relacionado com o número de gerações que a espécie produz por ano (Sakagami e Laroca 1971; Camillo e Garófalo 1982) e, outra característica importante desse grupo, é o fato de apresentarem filopatria, ou seja, a tendência das fêmeas permanecerem no local de origem reutilizando o ninho materno ou fundando novos ninhos próximos (Velthuis e Gerling 1983; Cahan et al. 2002). Tal comportamento representa uma melhor utilização do substrato de nidificação e um aumento no contingente de abelhas numa dada área (Junqueira et al. 2012).

Na região do Triângulo Mineiro, localizada no estado de Minas Gerais, foram observadas quatro espécies de *Xylocopa* reconhecidas como polinizadoras do maracujá-amarelo, *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *hirsutissima* Maidl 1912, *X.* (*Neoxylocopa*) *suspecta* Moure e Camargo 1988; *X.* (*Neoxylocopa*) *frontalis* (Olivier 1789) e *X.* (*Neoxylocopa*) *grisescens* Lepeletier, 1841, (Yamamoto 2009). Tais espécies, além de nidificarem em substratos naturais que atendam padrões de

textura e umidade da madeira, também nidificam em cavidades pré-existentes como ninhos-armadilha confeccionados com gomos de bambu (Camilo e Garófalo 1982; Chaves-Alves et al. 2011) e podem ser utilizadas em programas de manejo de polinizadores em áreas de cultivo de maracujá-amarelo (Junqueira et al. 2012, 2013).

Abelhas do gênero *Xylocopa* apresentam hábitos alimentares generalistas e são visitantes florais de diversas famílias botânicas e ainda apresentam a capacidade de realizar *buzz pollination*, ou seja, polinização por vibração, sendo capazes de extrair pólen de flores com anteras poricidas, como *Solanum* sp., *Cassia* sp., *Senna* sp., *Chamaecrista* sp. e *Tibouchina* sp. (Buchmann 1983). Tais espécies promovem um eficiente serviço de polinização tanto de espécies nativas como de espécies cultivadas. Dentre as espécies cultivadas, são polinizadores efetivos do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener), por possuírem tamanho e comportamento de forrageamento adequados (Camillo 2003; Junqueira et al. 2013) e, ainda, apresentarem grande autonomia de voo, com espécies alcançando 12 km de raio a partir do seu ninho (Freitas e Oliveira-Filho 2001).

O maracujá-amarelo apresenta flores hermafroditas, protândricas e autoincompatíveis, necessitando de polinização cruzada para a formação de frutos (Akamine e Girolami 1957; Corbet e Willmer 1980). Tal espécie é amplamente cultivada no Brasil com interesse econômico e, seus frutos, são utilizados na indústria de suco e no consumo *in natura* (Souza et al. 2004).

A importância da cultura do maracujazeiro no Brasil pode ser exemplificada pelo volume produzido anualmente que ultrapassa 900 mil toneladas (Agrianual 2014) e por apresentar um elevado preço de mercado, sendo que o crescente interesse das agroindústrias de suco concentrado culminou num aumento da área

de cultivo nos últimos anos (Damatto Junior et al. 2014). No caso do maracujá-amarelo, que tem as espécies de *Xylocopa* como os polinizadores efetivos, o sucesso reprodutivo e a manutenção da produtividade não podem ser garantidos em áreas com baixa densidade ou ausência dessas espécies, exceto por meio da utilização de polinização artificial, método efetivo, mas que representa um aumento de cerca de 12% nos custos e produção (Agrianual 2014). Neste contexto, o manejo desses polinizadores configura-se como uma ferramenta viável para incremento da densidade de polinizadores e, conseqüentemente, da produção (Junqueira et al. 2013).

O manejo de polinizadores do maracujá-amarelo depende diretamente da composição e da configuração da paisagem (Kremen et al. 2007) uma vez que o cultivo em questão apresenta um período de florescimento, que vai de setembro a abril (Silva 2005), e constitui apenas fonte de néctar para os polinizadores. Desse modo, o contexto da paisagem no entorno afeta diretamente a disponibilidade e qualidade recursos alimentares alternativos (Yamamoto et al. 2012).

A composição da paisagem no entorno de áreas de cultivo de maracujá-amarelo pode ser avaliada indiretamente através de análises das variações na amplitude no nicho alimentar de polinizadores manejados, uma vez que o contexto da paisagem está relacionado à disponibilidade de espécies vegetais fontes de pólen (Michener 2007). Neste sentido, a análise polínica é uma ferramenta útil para o delineamento de estratégias sustentáveis para o manejo de polinizadores, integrado com práticas agrícolas conservacionistas, como a manutenção de vegetação natural na área de entorno (Greenleaf e Kremen 2006; Holzschuh et al. 2008).

Objetivos e Apresentação da Tese

Considerando a importância dos serviços de polinização e a necessidade de projetar estratégias de mitigação contra déficits de polinização em cultivos de maracujá-amarelo, o objetivo geral da tese é estudar, por meio de diferentes abordagens, os serviços de polinização prestados pelas abelhas e o manejo de polinizadores do maracujá-amarelo, visando o incremento da qualidade e da produção agrícola.

Os dados oriundos desse estudo foram divididos em três capítulos. O primeiro capítulo apresenta uma revisão de serviço de polinização em diferentes cultivos agrícolas por meio de uma meta-análise, comparando a contribuição dos serviços de polinização prestados por *A. mellifera* e por espécies de abelhas nativas solitárias e sociais (Não-*Apis*) na produção agrícola. O segundo visa avaliar o efeito do manejo de polinizadores (*X. frontalis* e *X. grisescens*) na produção e qualidade em cultivos de maracujá-amarelo com diferentes déficits de polinização e, o terceiro capítulo, visa comparar a amplitude de nicho alimentar de *X. frontalis* e a similaridade no uso de fontes de pólen em áreas de criação e áreas de cultivo de maracujá-amarelo.

Adicionalmente foi elaborado um material de divulgação científica para produtores de maracujá-amarelo do Triângulo Mineiro (em **anexo**) com o intuito de disseminar informações acerca da criação e manejo de *X. frontalis* e *X. grisescens*, contribuir para a conservação desses polinizadores e com o incremento da qualidade e da produção agrícola da região.

Referências Bibliográficas

- Aebi, A., Vaissiere, B.E., vanEngelsdorp, D., Delaplane, K. S., Roubik, D. W., Neumann, P. (2012) Back to the future: *Apis* versus non-*Apis* pollination. Trends Ecol. Evol. **27**, 142-143
- AGRIANUAL, Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. 2014. FNP, São Paulo, Brasil.
- Akamine, E. K., Girolami, G. (1957) Problems in fruit set in yellow passion fruit. Hawaii Farm Science **14**(2), 3-4
- Bernardino, A. S., Gaglianone, M. C. (2008) Nest distribution and nesting habits of *Xylocopa ordinaria* Smith (Hymenoptera, Apidae) in a restinga area in the northern Rio de Janeiro State, Brazil. Rev. Bras. Entomol. **52**, 434-440
- Bispo dos Santos, S. A., Roselino, A. C., Hrncir, M., Bego, L. R. (2009) Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). Genet. Mol. Res. **8**, 751-757
- Bommarco, R., Kleijn, D., Potts, S. G. (2013) Ecological intensification: Harnessing ecosystem services for food security. Trends Ecol. Evol. **28**, 230-238
- Bosch, J., Kemp, W.P. (2001) How to manage the blue orchard bee, *Osmia lignaria*, as an orchard pollinator. Sustainable Agriculture Network, Washington.
- Breeze, T. D., Bailey, A. P., Balcombe, K. G., Potts, S. G. (2011) Pollination services in the UK: How important are honeybees? Agric. Ecosyst. Environ. **142**, 137-143
- Brittain, C., Kremen, C., Garber, A., Klein, A-M. (2014) Pollination and Plant Resources Change the Nutritional Quality of Almonds for Human Health. PLoS ONE **9**(2), e90082

- Bruinsma, J. (2009) The Resource Outlook to 2050, in: Expert Meeting on “How to Feed the World in 2050” 2009: FAO, Rome
- Buchmann, S. C. (1983) Buzz pollination in angiosperms, in: Eugene. C. E., Little, R. J. (Eds.), Handbook of experimental pollination biology. Van Nostrand Reinhold Company Inc., New York, pp. 73-114
- Cahan, S. H., Blumstein, D. T., Sundstrom, L., Liebig, J., Griffin, A. (2002) Social trajectories and the evolution of social behavior. *Oikos* **96**, 206-216
- Camillo, E. (2003) Polinização de maracujá. Holos Editora, Ribeirão Preto.
- Camillo, E., Garófalo, C. A. (1982) On the bionomics of *Xylocopa frontalis* (Oliver) and *Xylocopa grisescens* (Lepeletier) in southern Brazil: nest construction and biological cycle. *Rev. Bras. Entomol.* **42**, 571-582
- Chaves-Alves, T. M., Junqueira, C. N., Rabelo, L. S., Oliveira, P. E. A. M., Augusto, S. C. (2011) Recursos ecológicos utilizados por las especies de *Xylocopa* (Hymenoptera, Apidae) en el área urbana. *Rev. Colomb. Entomol.* **37**(2), 313-317
- Corbet, S. A., Willmer, P. G. (1980) Pollination of the yellow passionfruit: nectar, pollen and carpenter bees. *J. Agr. Sci.* **95**, 655-666
- Damatto Junior, E. R., Fuzitani, E. J., Nomura, E. S. (2014) Produção de maracujá com uso de mudas avançadas no Vale do Ribeira. *Rev. Pesq. Tec.* **1**, 1-6.
- Dupont, Y. L., Damgaard, C., Simonsen, V. (2011) Quantitative historical change in bumblebee (*Bombus* spp.) assemblages of red clover fields. *PLoS One* **6**, e25172
- Eilers, E. J., Kremen, C., Greenleaf, S. S., Garber, A. K., Klein, A-M. (2011) Contribution of Pollinator-Mediated Crops to Nutrients in the Human Food Supply. *PLoS One* **6**(6), e21363

- Faostat (2013) Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT (Database) [online] <http://data.fao.org/ref/262b79ca-279c-4517-93de-ee3b7c7cb553.html?version=1.0> (accessed 10 Dez 2014).
- Free, J. B. (1993) Insect pollination of crops. Academic Press Ltd., London.
- Freitas, B. M., Oliveira-Filho, J. H. (2001) Criação racional de mamangavas para polinização em áreas agrícolas. Banco do Nordeste, Fortaleza.
- Gallai, N., Salles, J. M., Settele, J., Vaissière, B. E. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.* **68**, 810-821
- Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R. et al. (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* **339**(6127), 1608–1611
- Garibaldi, L. A., Carvalheiro, L. G., Leonhardt S. D., Aizen, M. A., Blaauw, B. R. et al. (2014) From research to action: enhancing crop yield through wild pollinators. *Front. Ecol. Environ.* **12**(8), 439–447
- Garófalo, C. A., Martins, C. F., Alves-dos-Santos, I. (2004) The Brazilian solitary bee species caught in trap nests, in: Freitas, B. M., Pereira, J. O. P. (Eds.), Solitary bees - Conservation, rearing and management for pollination. Imprensa, Fortaleza, pp. 77–84
- Gerling, D., Velthuis, H. H. W., Hefetz, A. (1989) Bionomics of the large carpenter bees of the genus *Xylocopa*. *Annu. Rev. Entomol.* **34**, 163-190
- Ghazoul, J. (2005) Buzziness as usual? Questioning the global pollination crisis. *Trends Ecol. Evol.* **20**, 367-373
- Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D. et al. (2010) Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* **327**, 812–818

- Greenleaf, S. S., Kremen, C. (2006) Wild bees enhance honey bees' pollination of hybrid sunflower. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 13890-13895
- Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I., Tscharntke, T. (2008) Agricultural landscapes with organic crops support higher pollinator diversity. *Oikos* **117**(3), 354-361
- Hurd, P. D. (1978) An annotated catalog of the carpenter bees (genus *Xylocopa* Latreille) of the western hemisphere (Hymenoptera, Anthophoridae). Smithsonian Institution Press. Washington.
- Imperatriz-Fonseca, V. L., Jong, D. Saraiva, A. M. (2006) Bees as Pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting the best practices. Holos, Ribeirão Preto.
- Javorek, A. 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
- 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
- Junqueira, C. N., Yamamoto, M., Oliveira, P. E., Hogendoorn, K., Augusto, S. C. (2013) Nest management increases pollinator density in passion fruit orchards. *Apidologie* **44**, 729–737
- Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C. (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **274**, 303–313

- Kremen, C. (2005) Managing ecosystem services: what do we need to know about their ecology? *Ecol. Lett.* **8**, 468–79
- Kremen, C., Ostfeld, R. S. (2005) A call to ecologists: measuring, analyzing, and managing ecosystem services. *Front. Ecol. Environ.* **3**, 540–548
- Kremen, C., Williams, N. M., Aizen, M. A., Gemmill-Herren, B., G. LeBuhn, R. et al. (2007) Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecol. Lett.* **10**(4), 299–314
- Kuhn, E. D., Ambrose, J. T. (1984) Pollination of Delicious apple by megachilid bees of the genus *Osmia* (Hymenoptera: Megachilidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* **57**, 169–180
- Malagodi-Braga, K. S., Kleinert, A. M. P. (2004) Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses? *Aust. J. Agric. Res.* **55**, 771–773
- Mesquita, T. M. S., Vilhena, A. M. G. F., Augusto, S. C. (2009) Ocupação de ninhos-armadilha por *Centris* (Hemisiella) *tarsata* Smith, 1874 e *Centris* (Hemisiella) *vittata* Lepeletier, 1841 (Hymenoptera: Apidae: Centridini) em áreas de cerrado. *Biosc.J.* **25**(5), 124–132
- Michener, C. D. (2007) The bees of the world. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Oliveira, P. E., Gibbs, P. E. (2000) Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* **95**, 311–329
- Pereira, M., Garófalo, C. A. (2010) Biologia da nidificação de *Xylocopa frontalis* e *Xylocopa grisescens* (Hymenoptera, Apidae, Xylocopini) em ninhos-armadilha. *Oecol. Aust.* **14**, 193–209

- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C. Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. et al. (2010) Global pollinator declines trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* **25**, 345-353
- Rasmussen, C., Nieh, J. C., Biesmeijer J. C. (2010) Foraging biology of neglected bee pollinators. *Psyche* **2010**, 1-2
- Ricketts, H. T. (2004) Tropical forest fragments enhance pollinators activity in nearby coffee crops. *Conserv. Biol.* **18**(5), 1262-1271
- Ricketts, H. T., Regetz, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen C. et al. (2008) Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecol. Lett.* **11**, 499–515
- Sakagami, S. F., Laroca, K. (1971) Observations on the bionomics of some Neotropical Xylocopini bees, with some comparative biofaunistic notes (Hymenoptera, Anthophoridae). *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.* **18**(1), 57-127
- Shipp, L. H., Whitfield, G. H., Papadopoulos, A. P. (1994) Effectiveness of the bumblebee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera:Apidae), as a pollinator of green-house sweet pepper. *Sci. Hortic.* **57**, 29–39
- Silva, C. I., Ballesteros, P. L. O., Palmero, M. A., Bauermann, S. A., Evaldit, A. C. P. et al. (2010) Catálogo polínico - palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xylocopa* no Triângulo Mineiro. EDUFU, Uberlândia.
- Silveira, F. A., Melo, G. A. R., Almeida, E. A. B. (2002) Abelhas brasileiras. Sistemática e Identificação. Fundação Araucária, Belo Horizonte.
- Souza, M. M., Pereira, T. N. S., Viana, A. P. Pereira, M. G, Amaral Júnior, A. T. et al. (2004) Flower receptivity and fruit characteristics associated to time of pollination in the yellow passion fruit *Passiflora edulis Sims f. flavicarpa* Degener (Passifloraceae). *Sci. Hortic.* **101**(4), 373-385

- Steffan-Dewenter I, SG Potts, L Packer (2005) Pollinator diversity and crop pollination services are at risk. *Trends Ecol. Evol.* **20**, 652-653
- Thomson, J.D., Goodell, K. (2001) Pollen removal and deposition by honeybee and bumblebee visitors to apple and almond flowers. *J. Appl. Ecol.* **38**, 1032–1044
- Vaissière, B. E., Freitas, B. M., Gemmill-Herren, B. (2011) Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use. (FAO) Food and Agriculture Organization, Roma.
- Velthuis, H. H. W., Gerling, D. (1983) At the brink of sociality: interactions between adults of the carpenter bee *Xylocopa pubescens* Spinola. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **12**, 209-214
- Wilcock, C., Neiland, R. (2002) Pollination failure in plants: Why it happens and when it matters. *Trends Plant Sci.* **7**, 270–277
- Winfree, R., Aguilar, R., Vazquez, D.P., LeBuhn, G., Aizen, M. (2009) A meta-analysis of bees responses to anthropogenic disturbance. *Ecology* **90**(8), 2068–2076
- Yamamoto, M. (2009) Polinizadores do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener, Passifloraceae) no Triângulo Mineiro: riqueza de espécies, frequência de visitantes e a conservação de áreas naturais. PHD Thesis. Universidade Federal de Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG.
- Yamamoto, M., Silva, C. I., Augusto, S. C., Barbosa, A. A. A., Oliveira, P. E. (2012) The role of bee diversity in pollination and fruit set of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* forma *flavicarpa*, Passifloraceae) crop in Central Brazil. *Apidologie* **43**, 515–526

Capítulo 1

Using meta-analysis to compare the contribution of *Apis* and non-*Apis* bees to crop production²

² A formatação dessa seção obedece parcialmente às normas do periódico *Apidologie*.

Using meta-analysis to compare the contribution of *Apis* and non-*Apis* bees to crop production

Junqueira, C.N., Rabelo, L.S., Castro-Melo, A.L.S., Augusto, S.C.

Abstract

Pollination services performed by *Apis* and non-*Apis* bees can be considered one of the foremost components in agricultural production. As these species are undergoing population declines, this scenario calls for a better understanding of the agricultural pollination system. We used a meta-analysis technique to compare the contribution of *Apis* and non-*Apis* bees to crop production with different pollination dependency. Our results indicated that *Apis* and non-*Apis* bees present a similar contribution to the 18 crops analyzed with different pollination dependency levels. We suggest novel integrated practices for the management of *Apis* and non-*Apis* bees in crops visited by both groups of pollinators. For crops whose pollination requirements have not been met by *A. mellifera*, we reinforce the need to develop and improve techniques for managing wild bees, so as to maintain crop productivity and ensure the stability of ecosystem services.

Introduction

Pollination services can be considered one of the most important features in agricultural production. Insect pollinators are estimated to provide crop pollination services worth \$ 210 billion in market value (Faostats 2013) and over one-third of crops worldwide depends on animal pollinators (Klein et al. 2007; Gallai et al. 2009). Considering the sources of micronutrients, the contribution of pollination reaches 40% for crops sources of vitamins, for example (Eillers et al. 2011; Smith et al. 2015).

Bee pollination services are provided both by honeybees (*Apis mellifera*) and wild bees (non-*Apis* bees) (Free 1993). Honeybees are one of the most important crop pollinators worldwide and estimates suggest they are able to increase productivity of 96% of animal-pollinated crops (Klein et al., 2007; Winfree, 2010). In the U.S., honeybees contribute more than \$ 15 billion a year in value to agricultural crops, including the pollination of apples (*Malus domestica* Borkh), berries (*Vaccinium* spp.), cantaloupes (*Cucumis* spp.) and almonds (*Prunus dulcis* Mill) (Losey and Vaughan 2006; Morse and Calderone 2000; Faostats 2013).

The non-*Apis* bees include the social native bees and the solitary bees and are recognized as effective pollinators of many crops, such as pumpkin (*Curcubita* sp.) (Artz and Nault 2011), cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) (Phillips 2011), blueberry (*Vaccinium ashei*) (Dedej and Delaplane 2003), strawberry (*Fragaria* sp.) (Albano et al. 2009), coffee (*Coffea* sp.), strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) and avocado (*Persea Americana*) (Slaa et al. 2006). The abundance and diversity of wild bees are associated with an increase in crop productivity by providing stability to pollination services through mitigation of managed pollinators' declines (Winfree

et al. 2007) and enhancing per-visit efficiency of individual pollinators within the community (Brittain et al. 2013; Greenleaf and Kremen 2006).

In the last decade, multiple interconnected drivers such as global warming, pesticide use, habitat loss and parasites have contributed to a decline in number and range of both honeybees and wild bees (Potts et al. 2010). In the U.S. and Europe, the spread of Colony Collapse Disorder resulted in a mass disappearance of honeybees (Watanabe 2008). For wild bees, data available for bumblebees species, have documented significant decline of population's sizes in North America, Europe and Asia, including localized extinction for some species (Williams and Ousborne 2009; Goulson et al. 2015).

The decline in honeybees is not globally widespread and, in fact, the stocks of commercial honeybee colonies have increased in the past 50 years (Aizen and Harder 2009). However, in a regional context, there is a range of different scenarios. For example, in Europe, the demand for honeybee pollination increased faster than available stocks (Breeze et al. 2014).

For wild bees, populations' decline is more crucial to the maintenance of pollination service since recent investigations indicates that the majority of crop pollination is provided by wild pollinators rather than honeybees and that crop production is better correlated with wild pollinators abundance than with abundance of honeybees (Garibaldi et al. 2013; Goulson et al. 2015). Therefore, honeybee colonies alone will not ensure crop pollination and this scenario emphasizes the risk of relying only on single pollinator for crop production (Klein et al. 2007).

Non-*Apis* bees have proven to be more effective at pollinating since, in crop systems worldwide, an increment of wild insect visitation enhances fruit set by

twice as much as an equivalent increase in honeybee visitation (Garibaldi et al. 2013). However compared to wild bees, honeybees can equally provide efficient pollination services since larger population sizes result in higher visitation rates (Rader et al. 2009). These different perspectives are complementary as honeybees can supplement wild bee pollination services, which reinforce the potential effectiveness of integrated management of both honeybees and wild bees to assure global crop yields (Garibaldi et al. 2013).

Crops have different pollination requirements and call for different improvements in production and quality when pollinated. The degree of crop production dependence can be scored into five classes according to the reduction in production without pollination (Klein et al. 2007): (i) essential (production drops more than 90% in the absence of pollinators); (ii) high (pollinators contribute to 40 to 90% reduction); (iii) modest (10 to 40% reduction in production occurs without pollination service); (iv) little (absence of pollinators leads to 0 to 10% reduction in production), and (v) no reduction or lack of information to draw conclusions about pollinator dependence.

Meta-analysis is a useful tool (Glass 1976) and although it is widespread in medicine and social sciences, only recently has it been applied to ecology and more specifically to pollination studies (Winfrey et al. 2009). Due to the wide variety of bees and crop species, this technique is an effective way to synthesize pollination data collected through different methods, across a range of scales, and with a diverse set of crop species.

The above considerations coupled with the increasing debates about the impact of pollinator decline on global crops and a potential pollination crisis led us toward using meta-analysis techniques to review and synthesize the published

literature on crop pollination to verify whether *Apis* and non-*Apis* bees provide a similar contribution to production in crops with different pollination dependency.

Materials and Methods

Literature search

To identify published studies on pollination service provided by *A. mellifera* and non-*Apis* (social and solitary native bees) in different crops, we conducted a search, not limited to a single year or a journal, in Google Scholar databases (www.scholar.google.com), ISI Web of Knowledge (www.isiwebknowledge.com), JSTOR (www.jstor.org), SCIELO (www.scielo.org) and Scopus (www.scopus.com). We used the following key terms to search the database: (Apis OR Honey bee OR Non-Apis OR Native bees OR Wild bees OR Stingless bees OR Bumblebees OR Solitary bees OR Eusocial bees) AND (Crop production OR Yield OR Fruit Set OR Seed set OR Pollen Deposition OR Pollination effectiveness).

The final database used in the meta-analyses included 24 published articles reporting crop production by *A. mellifera* and non-*Apis* bees (social and solitary native bees). We excluded the studies presenting incomplete agricultural production data (mean, standard deviation, standard error, and sample size) and lacking treatment control (pollination without bees). We also ruled out of the analysis the studies presenting agricultural production data not categorized by taxonomic groups and/or lacking taxonomic group identification. To avoid pseudo-replication between selected studies, we only used the first year of each study and only one variety of each crop.

Crop yield were estimated through the published data by different means, such as, fruit weight, fruit set, pollination rate, number of seeds and seed weight.

For pollination service, it is well documented that different variables produce different yield responses and we have chosen to include in our review these different responses because there is a limited data separated by response type available and due to the fact that meta-analysis technique allowed the inclusion of different operational variables (Rosenberg et al. 2000).

Statistical analysis

We compared crop production response variables between two contrasting conditions, i.e., without bee pollination (control) and with bee pollination (experimental). We used Hedges' unbiased standardized mean difference (Hedges' d) (Gurevitch and Hedges 2001) as the metric of effect size for the meta-analysis. Hedges' d can be interpreted as the difference between crop yield pollinated by *Apis* and non-*Apis* bees versus crop yield without bees pollination, measured in standard deviation units.

To calculate Hedges' d , we obtained data, either from text, tables or graphs. Each study had to report mean values, sample sizes, and standard deviations of crop yield for each of the two categories (with and without bee pollination). We obtained data presented in graphical form using Datathief II software (Tummers 2006).

All analyses were conducted using MetaWin version 2.0 (Rosenberg et al. 2000). Confidence intervals of effect sizes were calculated using bias-corrected the bootstrap resampling procedures described by Adams et al. (1997). Data were analyzed using random-effect models, which are preferable in ecological syntheses because the random model considers the existence of variation within each study and among studies (Gurevitch and Hedges 2001).

Effect size heterogeneity was examined with Q statistics (Hedges and Olkin 1985). This test can be used for determining whether the variance among effect sizes is greater than expected by chance (Cooper 1998). For the categorical comparisons among the pollinator groups, we examined the *P* values associated with Q_{between} , which describe the variation in effect sizes between categories.

We made two broad comparisons of crop production between *Apis* and non-*Apis* bees, according to the following crop pollination dependency levels (Klein et al., 2007): (i) high/essential; (ii) modest and (iii) little. We first compared crops production between *A. mellifera* and non-*Apis*, and then among *A. mellifera*, social native bees, and solitary native bees.

Publication bias

We used funnel plots to investigate the possibility of publication bias, which are a powerful way of visualizing whether studies with small effect sizes are missing from the distribution of all effect sizes. We also applied the Spearman's rank correlation to the same data to verify the relationship between the standardized effect size and the sample size across studies. A significant correlation would denote a publication bias whereby larger positive effect sizes have an increased chance of publication than smaller effect sizes when the sample size is small (Rosenberg et al. 2000).

Finally, we used Rosenberg (2005) fail-safe number calculator to estimate the number of non-significant unpublished studies that would need to be added to a meta-analysis to nullify its overall effect size (Rosenthal 1979). This general weighted method for calculating fail-safe numbers proposed by Rosenberg (2005) is grounded in the meta-analysis framework and applicable to random-effect

models. If the fail-safe number is larger than $5 N + 10$, where n is the number of studies included in a meta-analysis, the publication bias may be safely ignored, i.e. the results are robust regardless of publication bias (Rosenthal 1991; Rosenberg 2005).

Results

We calculated 38 effect sizes from 24 studies in this meta-analysis. Of these, ten effect sizes were calculated from six studies regarding crops with high/essential pollination dependence, 13 effect sizes were calculated from nine studies regarding crops with modest pollination dependence and 15 effect sizes were calculated from nine studies regarding crops with little pollination dependence (Table 1, see supplementary material for further details).

Considering the crops included in our meta-analysis, *Apis* and non-*Apis* bees provide similar contribution to crop production for crops with high/essential, modest and little pollination dependence (Table 2, Figure 1). For the comparison between *A. mellifera*, social native bees and solitary bees, we also found a similar pattern, with no significant difference in the contribution to crop yield in crops with different pollination dependency (Table 3, Figure 2).

Regarding publication bias, visual inspection of funnel plots suggested the absence of publication bias and statistical analysis is consistent with this conclusion (rank correlation test $r_s = 0.51$; $P = 0.10$). Moreover, the fail-safe number calculated (1700) was much greater than expected (130), which also indicates no publication bias.

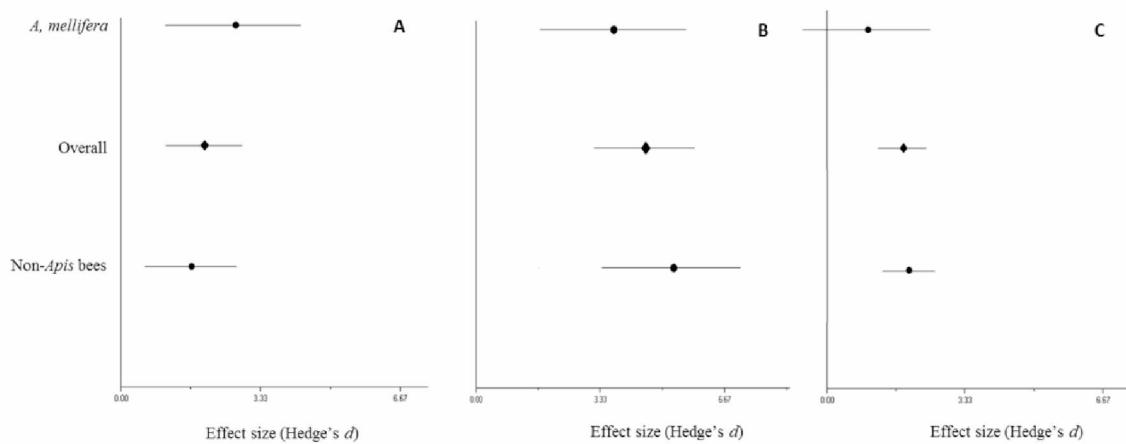


Figure 1. Hedges' d weighted mean effect sizes and 95% bias-corrected confidence intervals of crop production by *Apis mellifera* and non-*Apis* (social native bees and solitary bees) in crops with high/essential pollination dependence (A); modest pollination dependence (B) and little pollination dependency (C).

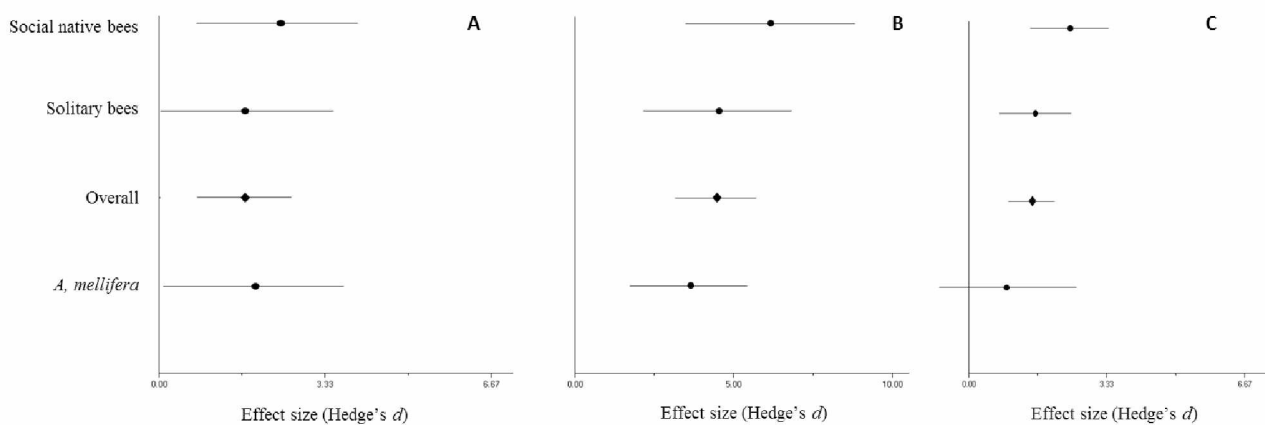


Figure 2. Hedges' d weighted mean effect sizes and 95 % bias-corrected confidence intervals of crop production by social native bees, solitary bees and *Apis mellifera* in crops with high/essential pollination dependency (A); modest pollination dependency (B) and little pollination dependency (C).

Table 1. Data summary gathered in the published studies. Pollinators and crop species, pollination dependency according to Klein et al. (2007), effect size (Hedges' d) and variance of effect size (Variance (d)).

Reference	Pollinator	Crop	Pollination Dependency	Hedges' d	Variance (d)
Dedej and Delaplane 2003	<i>Apis mellifera</i>	rabbiteye blueberry (<i>Vaccinium ashei</i>)	High/Essential	5.24	0.13
Dos-Santos and Rego 2008	<i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i>	cucumber (<i>Cucumis sativus</i>)	High/Essential	0.98	0.02
Dos-Santos and Rego 2008	<i>Nannotrigona testaceicornis</i>	cucumber (<i>Cucumis sativus</i>)	High/Essential	0.91	0.02
Phillips 2011	<i>Apis mellifera</i>	cranberries (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	High/Essential	0.00	0.17
Phillips 2011	<i>Bombus vosnesenskii</i>	cranberries (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	High/Essential	2.07	0.26
Maccagnani et al. 2003	<i>Osmia cornuta</i>	pear (<i>Pyrus communis</i>)	High/Essential	2.97	0.84
Artz and Nault 2011	<i>Apis mellifera</i>	pumpkin (<i>Cucurbita</i> sp.)	High/Essential	0.69	0.12
Artz and Nault 2011	<i>Bombus impatiens</i>	pumpkin (<i>Cucurbita</i> sp.)	High/Essential	4.79	0.42
Artz and Nault 2011	<i>Peponapis pruinosa</i>	pumpkin (<i>Cucurbita</i> sp.)	High/Essential	-0.69	0.12
Cane et al. 2011	<i>Peponapis pruinosa</i>	squash (<i>Cucurbita pepo</i>)	High/Essential	4.08	0.83
Albano et al. 2009	<i>Apis mellifera</i>	strawberry (<i>Fragaria</i> sp.)	Modest	1.83	0.10
Albano et al. 2009	Halictidae	strawberry (<i>Fragaria</i> sp.)	Modest	1.69	0.12
Freitas and Alves 2008	<i>Apis mellifera</i>	goiabeira (<i>Psidium guajava</i>)	Modest	2.84	0.16
Rao and Stephen 2009	<i>Apis mellifera</i>	red clover (<i>Trifolium pratense</i>)	Modest	16.81	2.42
Rao and Stephen 2009	<i>Bombus vosnesenskii</i>	red clover (<i>Trifolium pratense</i>)	Modest	16.43	2.32
Richards 1997	<i>Megachile rotundata</i>	hairy vetches (<i>Vicia</i> sp.)	Modest	3.35	0.05
Richards 1997	<i>Megachile rotundata</i>	winter vetches (<i>Vicia</i> sp.)	Modest	3.75	0.06
Sabbahi et al. 2005	<i>Apis mellifera</i>	rapeseed (<i>Brassica napus</i>)	Modest	0.55	0.03
Andrade et al. 2014	<i>Apis mellifera</i>	sesame seed (<i>Sesamum indicum</i>)	Modest	-0.05	0.01
Laudner et al. 2002	<i>Apis mellifera</i>	red rape (<i>Brassica rapa</i> L.)	Modest	13.82	4.97
Laudner et al. 2002	<i>Osmia cornuta</i>	red rape (<i>Brassica rapa</i> L.)	Modest	4.02	0.60
Ercan and Onus 2003	<i>Bombus terrestris</i>	sweet pepper (<i>Capsicum annuum</i>)	Modest	5.08	0.12
Shipp et al. 1994	<i>Bombus impatiens</i>	sweet pepper (<i>Capsicum annuum</i>)	Modest	0.07	0.00
Cauich et al. 2006	<i>Nannotrigona perilampoides</i>	habanero pepper (<i>Capsicum chinense</i>)	Little	0.91	0.03
Macias-Macias et al. 2009	<i>Apis mellifera</i>	habanero pepper (<i>Capsicum chinense</i>)	Little	1.33	0.06
Macias-Macias et al. 2009	<i>Apis mellifera</i>	tomato (<i>Solanum lycopersicon</i>)	Little	2.18	0.10
Macias-Macias et al. 2009	<i>Augochloropsis</i> sp.	habanero pepper (<i>Capsicum chinense</i>)	Little	0.54	0.09

Table 1 - Continuation

Macias-Macias et al. 2009	<i>Exomalopsis</i> sp.	tomato (<i>Solanum lycopersicon</i>)	Little	1.17	0.08
Macias-Macias et al. 2009	<i>Augochloropsis</i> sp.	habanero pepper (<i>Capsicum chinense</i>)	Little	1.34	0.11
Cruz et al. 2005	<i>Melipona subnitida</i>	sweet pepper (<i>Capsicum annuum</i>)	Little	7.60	0.42
Del-Sarto et al. 2005	<i>Melipona quadrifasciata</i>	tomato (<i>Solanum lycopersicon</i>)	Little	1.27	0.08
Hikawa and Miyanaga 2009	<i>Melipona quadrifasciata</i>	tomato (<i>Solanum lycopersicon</i>)	Little	0.29	0.40
Hikawa and Miyanaga 2009	<i>Bombus terrestris</i>	tomato (<i>Solanum lycopersicon</i>)	Little	0.51	0.41
Bell et al. 2006	<i>Amegilla holmesi</i>	tomato (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Little	0.99	0.11
Dogterom et al. 1998	<i>Bombus vosnesenskii</i>	tomato (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Little	3.45	0.41
Pando et al. 2011	<i>Xylocopa calens</i>	scarlet beans (<i>Phaseolus coccineus</i>)	Little	1.00	0.04
Serrano and Guerra-Sanz 2006	<i>Bombus terrestris</i>	sweet pepper (<i>Capsicum annuum</i>)	Little	3.55	0.17

Table 2. Mean effect size for *Apis mellifera* and Non-*Apis* bees according to crops with high/essential, modest and little pollination dependency. Variation in effect sizes between categories (Q_{between}) and P values associated.

Crop pollination dependency	Mean Effect Sizes <i>Apis mellifera</i>	Mean Effect Sizes Non- <i>Apis</i>	Q_{between}	P
High/Essential	2.672	1.659	1.036	0.446
Modest	3.648	5.307	1.454	0.597
Little	0.945	1.960	1.434	0.369

Table 3. Mean effect size for *Apis mellifera*, social native bees and solitary bees according to crops with high/essential, modest and little pollination dependency. Variation in effect sizes between categories (Q_{between}) and P values associated.

Crop pollination dependency	Mean Effect Sizes <i>Apis mellifera</i>	Mean Effect Sizes Social native bees	Mean Effect Sizes Solitary bees	Q_{between}	P
High/Essential	2.671	1.569	1.842	0.963	0.693
Modest	3.586	4.497	6.148	2.412	0.811
Little	0.944	2.432	1.485	3.195	0.479

Discussion

Considering the analyzed crops, subject of this meta-analysis, our results suggest that *Apis* and non-*Apis* bees contribute similarly to crops with high/essential, modest and little pollination dependency. Separate analyses by categories did not present any difference concerning social native and solitary bees, corroborating the equal contribution provided by these groups.

Our data set comprised eighteen crops including fruits, vegetables, spices and oil crops with diverse bee species as pollinators (Table 1) and even with differences regarding pollination efficiency and crop morphological traits, the overall analysis of the contribution of *Apis* and non-*Apis* bees to crop production indicates that both groups are essential for the maintenance of agricultural production.

Our study did not measure the efficiency of each of these bees as pollinators of crop plants. However, it consisted of a general approach that evidenced that *Apis* and non-*Apis* bees presented a statistically similar effect size regarding crop production. Despite not being statistically significant, it is worth to note that non-*Apis* bees exhibit a slightly higher effect size on crops with modest and little pollination dependency (Figures 1 and 2). Compared to honeybees, non-*Apis* bees (social native and solitary bees) are recognized as the most effective pollinators of most crops (Brittain et al. 2013). A review including 29 studies conducted around the world indicated that fruit set significantly increased with the rise in visitation rates and species richness of non-*Apis* pollinators (Garibaldi et al. 2011). Another extensive study on 41 crop systems worldwide also found similar results as fruit

set consistently increased with visitation by wild insects, independently of honeybee visitation (Garibaldi et al. 2013).

The higher pollination efficiency of non-*Apis* bees may be ascribable to the high diversity levels and spatial complementarity through different preferences for plant species, varieties or foraging locations presented by these pollinator groups. Those features influence foraging behaviors in ways that enhance the quality or quantity of pollen deposition through facilitation (Brittain et al. 2013; Mallinger and Gratton 2015).

Despite the undeniable pollination efficiency of non-*Apis* bees, the relevance of *Apis* versus non-*Apis* pollination is evaluated with contrasting differences by several authors (Cane 2002; Breeze et al. 2011; Aebi et al. 2012; Ollerton et al. 2012). This discussion is worthy an appraisal from the perspective of crop pollination dependency, plant morphological traits, and suitability of a particular pollinator for a given crop (Klein et al. 2007).

There is a wide range of marked differences in morphological and behavioral features between *Apis* and non-*Apis* bees, which translated into pollination efficiency. In the large-scale study of crop pollination performed by Garibaldi and collaborators (2013), fruit set responds better with visitation by wild insects. On the other hand, honeybee visitation significantly increased pollen deposition for some crops. These results indicated the supplementary role of honeybee pollination for crop production worldwide. Our results are in line with these findings since we found that *A. mellifera* provides a contribution to crop production equivalent to that offered by wild bees.

1 Although our database covering 24 studies and 38 effect sizes it is smaller
2 compared to other meta-analyses studies (Winfree et al. 2009), our statistical
3 analysis is consistent to detect the effect of interest and we match the assumptions
4 on conducting a random effects analysis (Valentine et al. 2010). We observed a
5 higher level of heterogeneity (Q_{between}) due to differences among studies including
6 sample size and data collection methods. However, such differences do not
7 necessarily lead to dissimilar results that would affect our conclusions (Higgins
8 and Green 2011).

9 Our meta-analysis and our search criteria did not indicate a bias towards a
10 pollinator group and we did not find statistical publication bias which is confirmed
11 by 'fail-safe results'. Using Rosenthal's method, we found that there would have to
12 be over 1600 unpublished studies to invalidate our results. The occurrence of so
13 many unpublished studies is unlikely which validates our conclusions (Rosenthal
14 1979).

15 There is a strong evidence of pollinator loss worldwide and a great concern
16 about its impact on agricultural production and crop diversity (Potts et al. 2010;
17 Cameron et al. 2011). Based on the equivalent contribution to crop production by
18 *Apis* and non-*Apis* bees, we suggest an integrated management of these pollinators
19 in crops that can be pollinated by both species. For crops whose pollination
20 requirements are not met by *A. mellifera*, we reinforce the need to develop and
21 improve wild bee management techniques so as not to rely only on a single
22 pollinator to maintain crop productivity and ensure the stability of ecosystem
23 services.

Acknowledgments

We are grateful to all researchers, who contributed with original data to this analysis. This manuscript was greatly improved by the comments of the editor and two anonymous reviewers. This project was supported by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

References

- Adams, D. C., Gurevitch, J., Rosenberg, M. S. (1997) Resampling tests for meta-analysis of ecological data. *Ecology* **78**, 1277–1283
- Aebi, A., Vaissiere, B. E., VanEngelsdorp, D., Delaplane, K. S., Roubik, D.W., Neumann, P. (2012) Back to the future: *Apis* versus non-*Apis* pollination. *Trends Ecol. Evol.* **27**, 142-143
- Aizen, M.A., Harder, L.D. (2009) The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination. *Curr. Biol.* **19**, 915–918
- Albano, S., Salvado, E., Duarte, S., Mexia, A., Borges, P.A.V. (2009) Pollination effectiveness of different strawberry floral visitors in Ribatejo, Portugal: Selection of potential pollinators. Part 2. *Adv. Hortic. Sci.* **23**, 246–253
- Artz, D.R., Nault B.A. (2011) Performance of *apis mellifera*, *Bombus impatiens*, and *Peponapis pruinosa* (Hymenoptera: Apidae) as pollinators of pumpkin. *J. Econ. Entomol.* **104**, 1153–1161

- 1 Breeze, T. D., Bailey, A. P., Balcombe, K. G., Potts, S. G. (2011) Pollination services in
2 the UK: How important are honeybees? *Agric. Ecosyst. Environ.* **142**,137-143
- 3 Breeze, T.D., Vaissière, B.E., Bommarco, R., Petanidou, T., Seraphides N., et al.
4 (2014) Agricultural Policies Exacerbate Honeybee Pollination Service Supply-
5 Demand Mismatches Across Europe. *PLoS One* **9**, e82996
- 6 Brittain, C., Williams, N., Kremen, C., Klein, A-M. (2013) Synergistic effects of non-
7 *Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]*
8 **280**, 20122767
- 9 Cameron, S. A., Lozier, J. D., Strange, J. P., Koch. J. B., Cordes, N., Solter, L.F.,
10 Griswold, T. L. (2011) Patterns of widespread decline in North American
11 bumble bees. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, 662-667
- 12 Cane, J. H. (2002) Pollinating bees (Hymenoptera: Apiformes) of U.S. alfafa
13 compared for rates of pod and seed set. *J. Econ. Entomol.* **95**(1), 22-27
- 14 Carreck, N., Williams, I. (1998) The economic value of bees in the UK. *Bee World*
15 **79**(3), 115-23
- 16 Cooper, H. (1998) *Synthesizing Research: A Guide for Literature Reviews*. Sage,
17 Thousand Oaks, CA.
- 18 Dedej, S., Delaplane, K.S. (2003) Honey bee (Hymenoptera: Apidae) pollination of
19 rabbiteye blueberry *Vaccinium ashei* var. "Climax" is pollinator density-
20 dependent. *J. Econ. Entomol.* **96**, 1215–1220
- 21 Delaplane, K.S., Mayer, D.F. (2000) Crop Pollination by bees. *Entomol. Exp. Appl.*
22 **99**, 127-129

- 1 Faostat (2013) Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT
 2 (Database) [online] [http://data.fao.org/ref/262b79ca-279c-4517-93de-](http://data.fao.org/ref/262b79ca-279c-4517-93de-ee3b7c7cb553.html?version=1.0)
 3 [ee3b7c7cb553.html?version=1.0](http://data.fao.org/ref/262b79ca-279c-4517-93de-ee3b7c7cb553.html?version=1.0) (accessed on 07 December 14)
- 4 Free, J. B. (1993) Insect pollination of crops. Academic Press, London, UK.
- 5 Gallai, N., Salles J. M., Settele, J., Vaissière, B. E. (2009) Economic valuation of the
 6 vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol.*
 7 *Econ.* **68**, 810-821
- 8 Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Kremen, C., Morales, J.M., Bommarco, R., et al.
 9 (2011) Stability of pollination services decreases with isolation from natural
 10 areas despite honey bee visits. *Ecol. Lett.* **14**, 1062–1072
- 11 Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R. et al.
 12 (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee
 13 abundance. *Science* **339**(6127), 1608-1611
- 14 Glass, G. V. (1976) Primary, secondary, and meta-analysis of research. *Educ. Res.* **5**:
 15 3-8
- 16 Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., Rotheray, E.L. (2015) Bee declines driven by
 17 combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers.
 18 *SciencExpress*, **2010**, 1–16
- 19 Greenleaf, S. S., Kremen, C. (2006) Wild bees enhance honey bees' pollination of
 20 hybrid sunflower. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 13890-13895
- 21 Gurevitch, J., Hedges, L. V. (2001) Meta-analysis: combining the results of
 22 independent experiments, in: Scheiner, S. M. and Gurevitch, J. (Eds.), *Design*
 23 *and Analysis of Ecological Experiments*. Oxford University Press, New York,
 24 NY, pp. 378–398.

- 1 Hedges, L. V., Olkin, I. (1985) Statistical Methods for Meta-analysis. Academic
2 Press, New York.
- 3 Higgins, J. P. T., Green, S. (2011) Cochrane Handbook for Systematic Reviews of
4 Interventions 5.1.0. The Cochrane Collaboration. [online] URL:
5 www.cochrane-handbook.org (accessed November 2014).
- 6 Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A.,
7 Kremen, C., Tscharntke, T. (2007) Importance of pollinators in changing
8 landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* **274** (1608), 303-313
- 9 Losey, J.E., Vaughan, M. (2006) The Economic Value of Ecological Services Provided
10 by Insects. *Bioscience*, **56** (4), 311-321
- 11 Mallinger, R.E., Gratton, C. (2015) Species richness of wild bees, but not the use of
12 managed honeybees, increases fruit set of a pollinator-dependent crop. *J.*
13 *Appl. Ecol.* **52**, 323–330
- 14 Morse, R.A., Calderone, N.W. (2003) The Value of Honey Bees As Pollinators of U.S.
15 Crops. *Bee Culture*, **128**, 1-15
- 16 Ollerton, J., Price, V., Armbruster, W.S., Memmott, J., Watts, S. et al. (2012)
17 Overplaying the role of honey bees as pollinators: a comment on Aebi and
18 Neumann (2011). *Trends Ecol. Evol.* **27**,141–142
- 19 Phillips, K.N. (2011) A comparison of bumble bees (*Bombus* spp.) and honey bees
20 (*Apis mellifera*) for the pollination of Oregon cranberries (Ericaceae:
21 *Vaccinium acrocarpon*). MSc Thesis. Oregon State University, USA
- 22 Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., et al. (2010)
23 Global pollinator declines trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* **25**,
24 345-353

- 1 Rader, R., Howlett, B.G., Cunningham, S.A., Westcott, D.A., Newstrom-Lloyd, L.E. et
2 al. (2009) Alternative pollinator taxa are equally efficient but not as effective
3 as the honeybee in a mass flowering crop. *J. Appl. Ecol.* **46**, 1080–1087
- 4 Rosenberg, M. S. (2005) The file-drawer problem revisited: a general weighted
5 method for calculating fail-safe numbers in metaanalysis. *Evolution* **59**, 464-
6 468
- 7 Rosenberg, M. S., Adams, D. C., Gurevitch, J. (2000) *MetaWin: Statistical Software for*
8 *Meta-analysis, Version 2.0.* Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- 9 Rosenthal, R. (1979) The file drawer problem and tolerance for null results.
10 *Psychol. Bull.* **86**, 638-641
- 11 Slaa, E.J., Sánchez Chávez, L.A., Malagodi-Braga, K.S., Hofstede, F.E. (2006) Stingless
12 bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie* **37**: 293–
13 315
- 14 Smith, M.R., Singh, G.M., Mozaffarian, D., Myers, S.S. (2015) Effects of decreases of
15 animal pollinators on human nutrition and global health: a modelling
16 analysis. *Lancet.* **6736**:1–9
- 17 Tummers, B. (2006) DataThief III <<http://datathief.org/>>
- 18 Valentine, J. C., Pigott, T. D., Rothstein, H. R. (2010) How Many Studies Do You
19 Need? A Primer on Statistical Power for Meta-Analysis. *J. Educ. Behav. Stat*
20 **35**(2), 215-247
- 21 Watanabe, M. E. (2008) Colony collapse disorder: many suspects, no smoking gun.
22 *BioScience* **58**(5), 384–388
- 23 Williams, P.H., Osborne, J.L. (2009) Bumblebee vulnerability and conservation
24 world-wide. *Apidologie* **40**, 367–387

- 1 Winfree, R., Williams, N.M., Dushoff, J., Kremen, C. (2007) Native bees provide
2 insurance against ongoing honey bee losses. *Ecol. Lett.* **10**, 1105–1113
- 3 Winfree, R., Aguilar, R., Vazquez, D. P., LeBuhn, G., Aizen, M. (2009) A meta-analysis
4 of bees responses to anthropogenic disturbance. *Ecology* **90**(8), 2068–2076
- 5 Winfree, R., Gross, B.J., Kremen, C. (2011) Valuing pollination services to
6 agriculture. *Ecol. Econ.* **71**, 80–88
- 7 Westerkamp, C. (1991) Honeybees are poor pollinators – why? *Plant Syst. Evol.*
8 **177**, 71–75

Supplement material

Table 1. Operational variable for crop production, mean, standard deviation (SD) and sample size of crop production regarding control group (without bee pollination) and experimental group (with bee pollination).

Reference	Operational Variable Crop Production	Control			Experimental		
		Mean	SD	Sample Size	Mean	SD	Sample Size
Dedej and Delaplane 2003	Fruit set	52.20	4.00	67.00	32.40	3.50	67.00
Dos-Santos and Rego 2008	Fruit weigh	294.65	76.28	100.00	198.83	114.73	100.00
Dos-Santos and Rego 2008	Fruit weigh	283.57	62.58	100.00	198.83	114.73	100.00
Phillips 2011	Seed number	16.50	0.70	12.00	15.00	0.70	12.00
Phillips 2011	Seed number	15.00	0.91	12.00	15.00	0.70	12.00
Maccagnani et al. 2003	Fruit set	11.20	2.84	5.00	3.75	1.49	5.00
Artz and Nault 2011	Fruit weigh	1.37	1.61	20.00	0.00	0.50	17.00
Artz and Nault 2011	Fruit weigh	3.17	0.58	20.00	0.00	0.50	17.00
Artz and Nault 2011	Fruit weigh	0.24	0.20	20.00	0.00	0.50	17.00
Cane et al. 2011	Pollination Rate	157.00	51.00	3.00	34.90	24.05	16.00
Albano et al. 2009	Pollination Rate	85.42	10.77	29.00	53.44	21.74	30.00
Albano et al. 2009	Seed number	85.87	12.69	18.00	53.44	21.74	30.00
Freitas and Alves2008	Seed number	143.19	3.70	72.00	123.53	4.00	72.00
Rao and Stephen 2009	Seed number	189.37	10.02	38.00	148.32	21.36	16.00
Rao and Stephen 2009	Seed number	207.40	14.40	30.00	27.20	5.20	30.00
Richards 1997	Seed number	214.20	14.63	30.00	27.20	5.20	30.00
Richards 1997	Seed number	6.80	2.60	100.00	0.00	0.00	100.00
Sabbahi et al. 2005	Pod number	7.60	2.70	100.00	0.40	0.09	100.00
Andrade et al. 2014	Seed weight	88.95	42.19	60.00	67.07	36.50	60.00
Laudner et al. 2002	Seed weight	0.24	0.02	159.00	0.24	0.02	140.00
Laudner et al. 2002	Seed weight	177.60	146.84	829.00	167.50	125.61	469.00
Ercan and Onus2003	Fruit weigh	290.00	87.60	10.00	30.00	0.50	10.00
Shipp et al. 1994	Seed number	430.00	39.20	10.00	30.00	0.50	10.00
Cauich et al. 2006	Seed number	51.60	24.70	70.00	31.10	19.80	70.00
Macias-Macias et al. 2009	Fruit weigh	5.50	2.10	41.00	2.80	1.90	40.00

Table 1 - Continuation

Macias-Macias et al. 2009	Fruit weigh
Macias-Macias et al. 2009	Fruit weigh
Macias-Macias et al. 2009	Fruit weigh
Macias-Macias et al. 2009	Fruit weigh
Macias-Macias et al. 2009	Fruit weigh
Cruz et al. 2005	Seed number
Del-Sarto et al. 2005	Seed weight
Hikawa and Miyanaga 2009	Seed weight
Hikawa and Miyanaga 2009	Seed number
Bell et al. 2006	Fruit weigh
Dogterom et al. 1998	Fruit weigh
Pando et al. 2011	Seed number
Serrano and Guerra-Sanz 2006	Seed number

45.70	9.90	15.00	37.40	16.50	40.00
8.30	3.20	26.00	2.80	1.90	40.00
8.60	3.60	18.00	2.80	1.90	40.00
55.20	12.20	25.00	37.40	16.50	40.00
57.80	9.40	15.00	37.40	16.50	40.00
137.83	9.44	42.00	74.16	6.75	37.00
1.11	0.21	15.00	0.00	0.00	128.00
54.00	3.00	5.00	51.00	13.00	5.00
58.00	12.00	5.00	51.00	13.00	5.00
140.80	21.91	20.00	124.70	5.10	20.00
188.40	13.72	12.00	149.90	6.80	12.24
6.96	0.84	29.00	5.89	1.08	572.00
49.81	7.05	30.00	27.50	5.24	30.00

References - Supplement material

- Albano, S., Salvado, E., Duarte, S., Mexia, A., Borges, P. A. V. (2009) Pollination effectiveness of different strawberry floral visitors in Ribatejo, Portugal: Selection of potential pollinators. Part 2. Adv. Hortic. Sci. **23**, 246–253
- Andrade, P. B., Freitas, B. M., Rocha, E. E. D. M., Lima, J. A., Rufino, L. L. (2014) Floral Biology and pollination requirements of sesame (*Sesamum indicum* L.). Acta Sci. Anim. Sci. **36** (1), 93-99
- Artz, D.R., Nault B.A. (2011) Performance of *Apis mellifera*, *Bombus impatiens*, and *Peponapis pruinosa* (Hymenoptera: Apidae) as pollinators of pumpkin. J. Econ. Entomol. **104**, 1153–1161
- Bell, M. C., Spooner-Hart, R.N., Haigh, A. M. (2006) Pollination of greenhouse tomatoes by the Australian bluebanded bee *Amegilla* (Zonamegilla) *holmesi* (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol. **99**, 437–442
- Cane, J. H., Sampson, B. J., Miller, S. A. (2011) Pollination Value of Male Bees: The Specialist Bee *Peponapis pruinosa* (Apidae) at Summer Squash (*Cucurbita pepo*). Environ. Entomol. **40**, 614–620
- Cauich, O., Quezada-Euán, J. J. G., Meléndez-Ramírez, V., Valdovinos-Núñez, G. R., Moo-Valle, H. (2006) Pollination of habanero pepper (*Capsicum chinense*) and production in enclosures using the stingless bee *Nannotrigona perilampoides*. J. Apic. Res. **45**(3), 125-130
- Cruz, D. O., Freitas, B. M., Silva, L. A., Silva, E. M. S., Bomfim, I. G. A. (2005) Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. Pesqui. Agropecuária Bras. **40**, 1197–1201

- Dedej, S., Delaplane, K. S. (2003) Honey bee (Hymenoptera: Apidae) pollination of rabbiteye blueberry *Vaccinium ashei* var. "Climax" is pollinator density-dependent. J. Econ. Entomol. **96**, 1215–1220
- Del Sarto M. C. L., Peruquetti, R.C., Campos, L. A. O. (2005) Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. J. Econ. Entomol. **98**, 260–266
- Dogterom, M. H., Matteoni, J. A., Plowright, R. C. (1998) Pollination of greenhouse tomatoes by the north american *Bombus vosnesenskii* (Hymenoptera : Apidae). Econ. Entomol. **91**, 71–75
- Ercan, N., Onus, A. M. (2003) The effects of bumblebees (*Bombus terrestris* L.) on fruit quality and yield of pepper (*Capsicum annuum* L.) grown in an unheated greenhouse. Isr. J. Plant. Sci. **51**, 275-283
- Freitas, B. M., Alves, J. E. (2008) Efeito do número de visitas florais da abelha melífera (*Apis mellifera* L.) na polinização da goiabeira (*Psidium guajava* L.) cv. Paluma. Ver. Ciência Agronômica **39**, 148–154
- Hikawa, M., Miyanaga, R. (2009) Effects of pollination by *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) on tomatoes in protected culture. Appl. Entomol. Zool. **44**, 301–307
- Ladurner, E., Santi, F., Maccagnani, B., Maini, S. (2002) Pollination of caged hybrid seed red rape with *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera Megachilidae and Apidae). B. Insectol. **55**, 9-11
- Maccagnani, B., Ladurner, E., Santi, F., Burgio, G. (2003) *Osmia cornuta* (Hymenoptera, Megachilidae) as a pollinator of pear (*Pyrus communis*): fruit- and seed-set. Apidologie **34**, 207-216

- Macias-Macias, O., Chuc, J., Ancona-Xiu, P., Cauich, O., Quezada-Euán, J. J. G. (2009) Contribution of native bees and Africanized honey bees (Hymenoptera: Apoidea) to Solanaceae crop pollination in tropical México. *J. Appl. Entomol.* **133**, 456–465
- Pando, J. B., Fohouo, F. N. T., Tamesse, J. L. (2011) Foraging and pollination behaviour of *Xylocopa calens* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) on *Phaseolus coccineus* L. (Fabaceae) flowers at Yaounde (Cameroon). *Entomol. Res.* **41**, 185–193
- Phillips, K. N. (2011) A comparison of bumble bees (*Bombus* spp.) and honey bees (*Apis mellifera*) for the pollination of Oregon cranberries (Ericaceae: *Vaccinium acrocarpon*). MSc Thesis. Oregon State University, USA
- Rao, S., Stephen, W. P. (2009) Bumble bee pollinators in red clover seed production. *Crop Sci.* **49**, 2207–2214
- Richards, K. W. (1997) Potential of the alfalfa leafcutter bee, *Megachile rotundata* (F.) (Hym., Megachilidae) to pollinate hairy and winter vetches (*Vicia* spp.). *J. Appl. Entomol.* **121**, 225–229
- Sabbahi, R., Oliveira, D., Marceau, J. (2005) Influence of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Density on the Production of Canola (Crucifera: Brassicaceae). *J. Econ. Entomol.* **98**, 367–372
- Santos, S. A. B., Roselino, A. C., Bego, L. R. (2008) Pollination of cucumber, *Cucumis sativus* L. (Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the stingless bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses. *Neotrop. Entomol.* **37**, 506–12
- Shipp, J.L., Whitfield, G. H., Papadopoulos, A. P. (1994) Effectiveness of the bumble bee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera: Apidae), as a pollinator of greenhouse sweet pepper. *Sci. Hortic.* **57**, 29–39

Capítulo 2

Bigger and Sweeter Passion Fruits: effect of pollinators' enhancing on fruit production and quality³

³ A formatação dessa seção obedece parcialmente às normas do periódico *Apidologie*

Bigger and Sweeter Passion Fruits: effect of pollinator enhancement on fruit production and quality

Junqueira, C.N., Augusto, S.C.

Abstract

Brazil stands out as the world's largest producer of yellow passion fruit, a species of economic interest which, due to its self-incompatibility, depends on pollinators for fruit formation. The main pollinators of passion fruit are large solitary bees of the genus *Xylocopa*, commonly known as carpenter bees, which are potential candidates for management. Passion fruit crops exhibit a low density of pollinators and, consequently, a reduction in production. To improve management techniques of *X. frontalis* and *X. grisescens*, the general aim of this study was to evaluate the effect of pollinator enhancement on pollination services in passion fruit crop areas. Our results demonstrated that pollinator enhancement was an efficient way to minimize pollination deficit in passion fruit crops, as it promoted the production of a bigger and sweeter fruit. Data obtained in our study are essential to consolidate management techniques for carpenter bees in passion fruit crops.

Keywords: Crop Pollination/ Fruit Quality/ Passion Fruit/ Carpenter Bees/ Nest Management

Introduction

Human food production relies on a variety of inputs including soil quality, water availability, and pest management (Pretty 2008). Among these, pollination by bees stands out as a major natural input accounting for the production of 75% of the world's agricultural crops, including important species that are sources of micronutrients (Ellis et al. 2015; Klein et al. 2007).

The economic valuation of ecosystem services provided by pollinators exceeds €150 billion annually (Gallai et al. 2009). Furthermore, other factors associated with agricultural production, such as fruit quality and oil quantity in seeds, which add greater value to the product, thereby increasing its market price, are also associated with pollinators richness and abundance (Hanley et al. 2015). Even for self-compatible crops, such as sunflower (*Helianthus annuus*) and coffee (*Coffea arabica*), natural pollination is related to an increase in production yields (Greenleaf and Kremen, 2006; Ricketts, 2004).

The pollinator decline has contributed to the reduction of both *A. mellifera* and native wild pollinator populations, which contributes to a yield gap in agricultural production, i.e., a difference between the actual and the potential output (Bommarco et al. 2013). This decrease originates from exogenous recurrent factors, such as land use intensification, indiscriminate use of pesticides, climate changes, and incidence of viruses and parasites (Potts et al. 2010; Wilcock and Neiland 2002; Dupont et al. 2011). In this scenario, the increment of ecosystem services, such as the increment of natural pollination through the management of pollinators, is a sustainable alternative to minimize this decline and contribute to the maintenance and increase of agricultural production (Bommarco et al. 2013; Steward et al. 2014).

Ecological intensification through the management of pollinators in crop areas has been widely used, especially with *A. mellifera*, which stands out as the most worldwide

managed pollinator due to its easy mobility, highly populated colonies, and for presenting generalist food preferences (Westerkamp 1991; Klein et al. 2007). However, the dependence on a single pollinator for pollination of agricultural crops endangers food production stability, due to the higher vulnerability of crops faced with pollinator decline. Furthermore, *A. mellifera* may not be an efficient pollinator of some crops, due to its foraging behavior or flower morphology incompatibility (Bispo dos Santos et al. 2009; Junqueira et al. 2013).

Wild bees play a crucial role in crop pollination due to their greater pollination efficiency compared to honey bees in some crops. They are also a viable alternative to the dependence on a single pollinator (Garibaldi et al. 2013). Experiments with apple crops evidenced that *Bombus* spp. exhibits a greater pollen deposition onto the stigma than *A. mellifera* (Thomson and Goodell 2001). In blueberry crops, *Bombus* spp. and *Andrena* spp. presented a greater visitation rate and fruit production than *A. mellifera* (Javorek et al. 2002). Thus, the development of management procedures that enhance wild pollinators is essential to increase agricultural production, reducing food insecurity and contributing to the conservation of these pollinators.

The management of solitary species is widely developed for cavity-nesting bees (Bosch and Kemp 2001, 2002; Magalhães and Freitas 2012) and some ground-nesting bees like the Bluebanded bee, *Amegilla* (*Zonamegilla*) *holmesi*, managed for tomato (*Lycopersicon esculentum* Miller) pollination through the introduction of nesting bricks filled with mud (Bell et al. 2006; Hogendoorn et al. 2000).

Brazil is the world's largest producer of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger). This fruit species is of high economic interest with a production above 800,000 tons per year (Agrianual 2014). Due to its self-incompatibility, this crop depends on pollinators for fruit formation (Corbet and Willmer 1980).

The main pollinators of passion fruit are large solitary bees of the genus *Xylocopa*, which nesting habits includes pre-existing cavities and, therefore, are potential candidates for management (Pereira and Garófalo 2010). Other floral visitors include *A. mellifera* and stingless bees, which are known for their medium and small body size and are considered pollen thieves, as they do not contact the flower reproductive structures during pollen and/or nectar collection (Sazima and Sazima 1989).

Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis (Olivier 1789) and *Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens* Lepeletier are effective pollinators of passion fruit and are easily managed in trap-nests made of bamboo canes (Junqueira et al. 2013, 2012). The use of such substrate combined with the introduction of nests in crop areas of passion fruit proved to be an effective strategy to establish populations, increase pollinators density and reduce the density of thieves (Junqueira et al. 2013).

Passion fruit crops exhibit a low density of pollinators because of the reduction of natural vegetation surrounding these crops, which implies a reduction of food and nesting resources (Camillo 2003; Yamamoto et al. 2012). The pollinator deficit in these crops has been minimized with the use of manual pollination. However this practice is expensive and raises production costs up to 12% (Agrianual 2014).

To improve management techniques of *X. frontalis* and *X. grisescens*, the overall aim of this study was to evaluate the effect of pollinator enhancement on pollination services in passion fruit crop areas. To address this issue, we set up the amount of pollinator nests per hectare according to the pollination deficit, and assessed the effect of pollinator enhancement on passion fruit production and quality.

Material and Methods

Study areas

The study took place throughout the passion fruit flowering season (November 2014 to June 2015) and was accomplished in six crop areas with sizes ranging from 1 to 3 hectares, located in Araguari and Uberlândia, Triângulo Mineiro region, state of Minas Gerais, southeastern Brazil (*Table 1*). All crop areas used the same variety of yellow passion fruit and similar technical agronomic assistance. The climate is tropical and characterized by two distinct seasons, a dry season (April–September) and a rainy season (October–March) (Rosa et al. 1991).

Procedures

Pollinator enhancement experiment

In each crop area, we constructed a bee shelter with a yellow plastic cover of 1.8 meters high and 1 meter long. Each bee shelter contained 48 trap-nests made of bamboo canes, closed at one end by the node and with an inner diameter ranging from 1.8 and 2.2 cm and length of approximately 25 cm. The pollinator enhancement experiment included both the supply of nest substrate and the introduction of *X. frontalis* and *X. grisescens* nests.

The areas were classified according to natural pollination percentage to enable us to determine how many pollinator nests should be introduced into crop areas. The classification was based on passion fruit production data in different locations in Brazil (Camillo 2003; Kavati 1998; Sazima and Sazima, 1989; Oliveira-Filho and Freitas 2003; Bos et al. 2007) and in the Triângulo Mineiro region (Yamamoto et al. 2012). According to these studies results, the average natural pollination percentage of passion fruit is $13.7 \pm 8.9\%$ (Brazil = $15.7 \pm 10.3\%$;

Triângulo Mineiro= $11.1 \pm 6.4\%$). Therefore, areas with natural pollination percentages over 13% were classified as areas with a low deficit of pollination (LDP) and areas below 13% were classified as areas with a high deficit of pollination (HDP).

We introduced 4 nests/ha, in three of the six selected study areas classified as LPD. In the remaining three, classified as HPD areas, we introduced 8 nests/ha (Table 1). We transferred the nests of *X. frontalis* and *X. grisescens* from the breeding areas located in Uberlândia and Araguari - MG, with an average distance of 50 km from the passion fruit crops. Each nest contained only one female and presented no brood cells. We estimated that nests with no brood cells would exhibit a percentage of female permanence of approximately 50% (Junqueira et al. 2012) and with the number of nests introduced, we expected to get at least a fraction of pollination increase.

Table 1. Location (coordinates), size (hectares), percentage of natural pollination and number of introduced nests in the passion fruit crop areas.

	Location	Size (hectares)	% Natural Pollination	Nº of Introduced Nests
Area 1	18°43'29"S/ 48°08'25"W	2	19.30	8
Area 2	18°43'00"S/ 48°04'14 "W	3	17.43	12
Area 3	18°30'98"S/ 48°27'77"W	2	16.67	8
Area 4	18°27'99"S/ 48°25'45"W	1	9.84	8
Area 5	18°51'54"S/ 48°27'28"W	1	2.61	8
Area 6	18°33'12"S/ 48°23'55"W	1	4.41	8

Pollinator and thieves densities

We evaluated the density of pollinators and thieves in the passion fruit crop areas using the visitation rate, which was measured by the number of visits per flower per time unit

through the transect census method (Dafni et al. 2005; Winfree et al. 2008). Visitation rates were evaluated for three consecutive days before and after the pollinator enhancement with the introduction of nests in each crop area.

We established two transects of 50 meters in length and 2.5 meters in width along the crop lines in each study area. Each transect was walked for 10 min, at hourly intervals, between 1300h and 1600h with a sampling effort of 8 h per study area. We conducted all censuses on sunny and warm days, which displayed both the highest number of open flowers and the activity of bee species.

Passion fruit production and quality

The percentage of passion fruit formation was assessed by natural pollination experiments in each study area by marking 50 flowers per day during three consecutive days before and after the pollinator enhancement. These natural pollination experiments were made during the peak flowering and within a short time span (7 to 10 days) to avoid seasonal effects in fruit production. The flowers selected presented stylus with total curvature, which indicates the effective pollination period (Bruckner and Silva 2001) and were distributed in different plants along the crop lines.

The fruit quality was evaluated by measuring the following physical and chemical attributes: fruit weight (g), flesh weight (g) and number of seeds. The chemical attributes were evaluated through the relationship between soluble solids and the total titratable acidity. Soluble solids (SS) indicated the sugar content of fruit juice and were measured using juice from the pulp sample of each fruit by using a manual refractometer with results expressed in Brix°. Total titratable acidity (TTA) indicated the acid concentration in fruit juice and was determined by titrating diluted passion fruit flesh with a sodium hydroxide solution (0.1 mol.L⁻¹) in a Mettler Toledo® automatic titrator. We used 1 g of flesh pulp dissolved in 50 mL

of distilled water and performed the titration in triplicate. Total acidity was expressed as percent of citric acid.

Data analysis

We conducted the data analysis using the statistical package Systat 10.2 © (2002), according to Zar (2000) and considered each observation day in the study areas as a sample unit. We used the Kolmogorov-Smirnov test (Lilliefors) ($p > 0.05$) to verify the normality of the data. For data that could not be normalized, we used non-parametric tests. Average values presented are followed by the standard deviation values. We used paired t-test to evaluate the effect of pollinator enhancement on pollinator and thieves densities and to evaluate fruit production and quality before and after pollinator enhancement. We used the Spearman correlation to test the association of the percentage of natural fruit set with the density of pollinators and thieves. We used the paired t-test and Wilcoxon test to compare fruit quality parameters.

Results

Effect of pollinator enhancement on the pollinator and thieves densities

Considering the six study areas, we observed that pollinator enhancement promoted a significant increase in pollinator density of both LPD and HPD areas (LPD areas: $t=3.12$; $df=16$, $p=0.007$; HPD areas: $t=-8.09$; $df=16$, $p=0.005$) whereas the thieves density presented a significant decrease (LPD areas: $t=3.69$; $df=16$, $p=0.002$; HPD areas: $t=3.67$; $df=16$; $p=0.002$) (Figure 1).

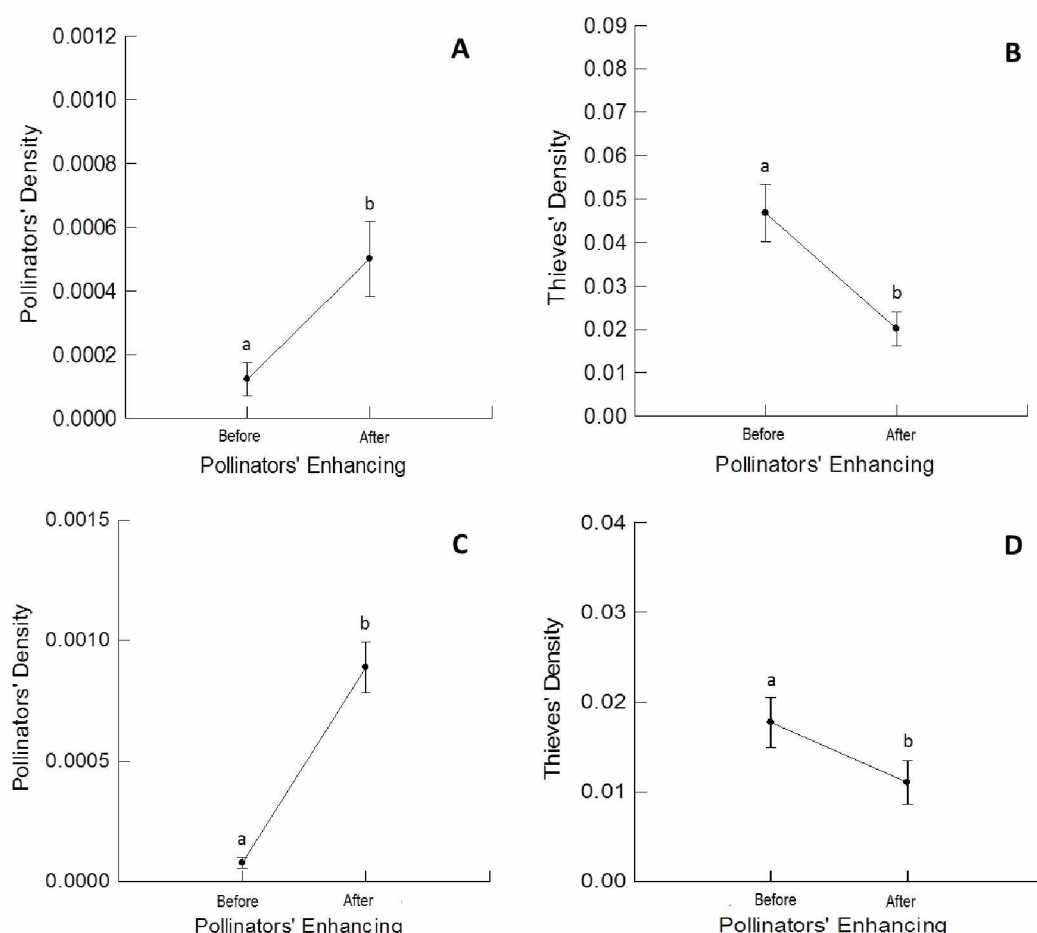


Figure 1. Average density (\pm SE) of pollinators (*Xylocopa frontalis* and *X. grisescens*) and thieves (*Apis mellifera* and stingless bee species) calculated by visitation rate before and after pollinator enhancement in all study areas (A and B: Low Pollination Deficit Areas; C and D: High Pollination Deficit Areas). Superscript letters indicate equality or difference between sample means.

Effect of pollinator enhancement on fruit production and quality

Due to a plant bacterial disease in one of the study areas during data collection, we evaluated crop production and quality only in five study areas. Considering the classification of the study areas according to pollination deficits, the variation on percentage of natural fruit set increment of LPD areas ranged from 11.83 % to 33.33% and in HPD areas ranged from 21.74% to 42.68% Considering the production increment, LPD areas present an average

increment of 109.28% and HPD areas present an average increment of 748.63% ($t=2.979$, $df=13$, $p=0.011$) (Figure 2; Table 2).

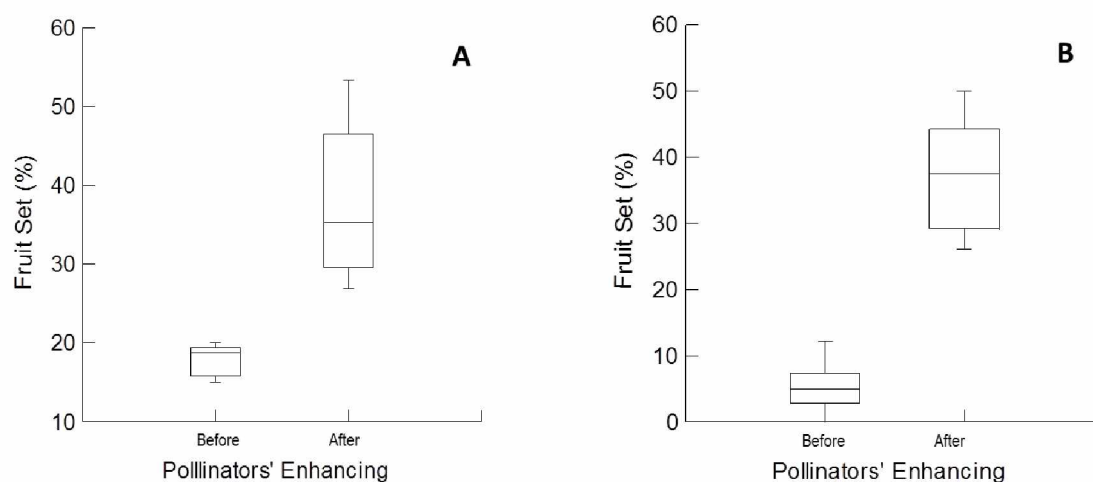


Figure 2. Increment of fruit set percentage assessed by natural pollination (percentage of fruit set) before and after pollinator enhancement in five study areas of passion fruit crop located in Uberlândia and Araguari - MG (A: Low Pollination Deficit areas; B: High Pollination Deficit areas).

Table 2. Study areas classification (LPD: low pollination deficit; HPD: high pollination deficit), percentage of natural fruit set before (BPE) and after pollinator enhancement (APE), average fruit set increment.

Study Areas	Classification	Fruit Set BPE (%)	Fruit Set APE (%)	Fruit Set Increment (%)
1	LPD	19.3±2.5	45.3±6.8	134.72
3	LPD	16.7±2.1	30.7±3.5	83.83
4	HPD	9.8±3.5	48.1±3.2	390.82
5	HPD	2.6±0.8	36±6.7	1284.63
6	HPD	4.4±1.3	29.5±4.5	570.45

We also observed a positive correlation between the percentage of natural fruit set and pollinator density ($r_s=0.74$, $df=30$; $p=0.001$). Diversely, the percentage of natural fruit set and

the density of thieves bees presented a negative correlation ($r_s=-0.36$, $df=30$; $p=0.002$), which confirm the effect of pollinator enhancement on fruit set percentage.

Pollinator enhancement was an effective method to improve physical and chemical characteristics of fruits in both LPD and HPD areas. Comparing fruits from natural pollination treatment before and after pollinator enhancement, in LPD areas there was an increase of 46% in weight (fruit weight: $z=-8.27$; $p=0.03$ / flesh weight: $z=1.93$; $p=0.0142$), 44% in seed number ($z=1.93$; $p=0.04$) and 31% in sweetness ($t=-2.93$; $df=18$; $p=0.009$), and in HPD areas there was an increase of 45% in weight (fruit weight: $t=-4.02$; $df=28$; $p=0.001$ / flesh weight: $t=-3.64$; $df=28$; $p=0.001$), 49% in seed number ($t=-4.24$; $df=28$; $p=0.001$) and 32% in sweetness ($z=3.96$; $p=0.001$) (Table 3).

Table 3. Physical and chemical characteristics of fruits from natural pollination treatment before pollinator enhancement (NP-BPE) and after pollinator enhancement (NP-APE) in areas with low pollination deficit (LPD) and with high pollination deficit (HPD). Superscript letters indicate equality or difference between sample means.

Physical and chemical characteristics					
		fruit weight (g)	flesh weight (g)	seed number	Soluble solids/ Titratable acidity
LPD Areas	NP - BPE	135.08±55.19 ^a	59.34±29.25 ^a	236.42±144.52 ^a	2.97±0.83 ^a
	NP - APE	189.03±65.48 ^b	89.89±29.32 ^b	339.20±91.19 ^b	3.88±0.97 ^b
HPD Areas	NP - BPE	127.48±47.00 ^a	56.17±25.13 ^a	200.86±85.56 ^a	2.32±0.66 ^a
	NP - APE	182.28±44.99 ^b	82.21±29.87 ^b	298.48±104.13 ^b	3.06±0.77 ^b

Discussion

Our results demonstrated that pollinator enhancement was an efficient management technique to minimize pollination deficit in passion fruit crops since it promoted an increase in pollinator density, a decrease in thieves' density and a significant rise in the number and quality of fruits.

The passion fruit is an interesting model to test solitary bee management procedures, as it is a crop that necessarily depends on pollination for adequate fruit formation (Corbet and Willmer 1980) and presents solitary bees with management potential as effective pollinators (Junqueira et al. 2013).

Pollinator enhancement reduced the pollination deficit in passion fruit crops in all study areas. First, we verified that the increase in pollinator density was followed by a reduction in the visitation rate of thieves, corroborating the previous (Junqueira et al. 2013). Passion fruit thieves include *A. mellifera* and stingless bee species, which may contribute to the reduction of the amount of nectar and/or pollen available and the visitation rate of pollinators, due to its collective group foraging behavior (Sazima and Sazima 1989; Maloof and Inouye 2000). The increase in the visitation rate of large pollinators with a high energy demand implies competition for nectar since there is a decrease in both quantity and quality of this resource, which negatively affect the density of thieves on passion fruit crop areas (Kearse 2000).

Pollinator enhancement in crop areas promoted an increment of both production and quality of passion fruits. A higher visitation rate of pollinators probably led to a higher pollen deposition, translated into higher crop production with improved quality. This effect confirms that there was a limitation of agricultural output in the studied crops due to a crop pollination deficit (Vaissière et al. 2011).

Pollination services present an overall impact on multiple aspects of production and quality of several crops, including the passion fruit. For strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch), there is a positive effect of bee pollination on fruit weight and shelf life (Klatt et al. 2014). Other studies have also demonstrated that chemical parameters, like the oil content in oilseed rape (*Brassica napus*) and sugar concentration in oranges (*Citrus reticulata* Blanco) were enhanced through pollination (Wallace and Lee 2009; Bommarco et al. 2013). As regards the passion fruit chemical attributes, our results support the finding of Silveira et al. (2012) substantiating that the pollination service can affect the SS/TTA relationship, which is generally used as a measurement for evaluating fruit flavor (Nascimento et al. 2009).

As a general result, the increase in pollinator density promoted the production of bigger and sweeter fruit, leading to a direct impact on the valuation of pollination services (Hanley et al. 2015). The pollinator enhancement resulted in an average increment in production ($27.4 \pm 9.2\%$), average yield (16ton/ha), and value of passion fruit per kilogram (1.14\$ - US dollar) in the state of Minas Gerais - Brazil (Agrianual 2014). The economic value promoted by the enhanced pollinator services in these study areas was estimated at 5000\$ US dollars per hectare.

To refine pollinator management, we also defined how many bees are required to minimize the pollination deficit. To calculate the number of nests to be introduced in passion fruit crops, we considered the size of the area and natural pollination indices. Natural pollinator density is directly related to the yield and production quality of crops that rely on or benefit from pollination (Klein et al. 2007; Vassière et al. 2011). For fruit pollination, using solitary bee species like *Osmia cornifrons* and *O. cornuta*, the density of pollinators is based on the crop size and is determined by the average number of bee visits and the number of flowers per tree (Vicens and Bosch 2000). To achieve positive yield effects on apple crops, 530 nesting females of *O. cornuta* per hectare are recommended and for almond pollination,

750 nesting females per hectare (Bosch and Kemp 2002). However due to the size of carpenter bees and the long flight distance, the number of nests needed for pollination is lower compared with *Osmia* spp., for example (Freitas and Oliveira-Filho 2001; Gathmann and Tschamntke 2002).

We found similar results regarding production increment with previous studies involving carpenter bees management in passion fruit, which corroborates our classification of crop areas according to pollination deficit and the amount of carpenter bees introduced. One of the first studies in Brazil was conducted in a crop area with 3% of natural fruit set. The introduction of 25 nests per hectare promoted a variation of natural fruit set percentage of 22% with an increase of 700% in production (Camillo 2003). In another study in a crop area with 13% of natural fruit set, the introduction of seven nests placed in rational nesting per hectare promoted a variation of natural fruit set percentage of 12% with an increase of 92% in production (Freitas and Oliveira -Filho 2003).

The data obtained in our study highlight the importance of considering both the crop size and natural fruit set rates for calculating the amount of nests for a successful management of these pollinators. Those data are also essential to consolidate management techniques of carpenter bees in passion fruit crops. It is possible to rear and increase populations of these bees in crop areas using low-cost trap-nests as shown previously by other authors (Camillo 2003, Freitas e Oliveira-Filho 2003) and to increase pollinator density to produce bigger and sweeter passion fruits. Our study also showed the effect of bee pollination on fruit quality to further understand the real contribution of this ecosystem service.

Acknowledgments

This study was supported by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). We are grateful to the passion fruit producers from Uberlândia and Araguari-MG for allowing our field work and to Pedro Gregol, agronomist at Empresa Brasileira de Bebidas e Alimentos (Ebba), for supporting the selection of the study areas. S.C. Augusto received research fellowships from CNPq and C. N. Junqueira received a fellowship from FAPEMIG

References

- Agrianual Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. (2014) FNP Consultoria e Comércio, São Paulo, Brasil.
- Bell, M. C., Spooner-Hart, R. N., Haigh, A. M. (2006) Pollination of greenhouse tomatoes by the Australian bluebanded bee *Amegilla* (*Zonamegilla*) *holmesi* (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol. **99**, 437–442
- Bispo dos Santos, S. A., Roselino, A. C., Hrncir, M., Bego, L. R. (2009) Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). Genet. Mol. Res. **8**, 751–757
- Bommarco, R., Kleijn, D., Potts, S. G. (2013) Ecological intensification: Harnessing ecosystem services for food security. Trends Ecol. Evol. **28**, 230–238
- Bos, M. M., Veddeler, D., Bogdanski, A. K., Klein, A. M., Tscharnkte, T., Steffan-Dewenter, I., Tylianakis, J. M. (2007) Caveats to quantifying ecosystem services: Fruit abortion blurs benefits from crop pollination. Ecol. Appl. **17**, 1841–1849

- Bosch, J., Kemp, W. P. (2001) How to manage the blue orchard bee, *Osmia lignaria*, as an orchard pollinator. Sustainable Agriculture Network, Washington, DC.
- Bosch, J., Kemp, W. P. (2002) Developing and establishing bee species as crop pollinators : the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. Bull. Entomol. Res. **92**, 3–16
- Bruckner, C. H., Silva, M. M. (2001) Florescimento e frutificação. in: Bruckner, C. H. and Pianço, M. C. (Eds.), Maracujá tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Editora Cinco Continentes. Porto Alegre, Brazil, , pp.52-83
- Camillo, E. (2003) Polinização de maracujá. Holos Editora, Ribeirão Preto, SP.
- Corbet, S. A., Willmer, P. G. (1980) Pollination of the yellow passion fruit: nectar, pollen and carpenter bees. J. Agr. Sci. **95**, 655–666
- Dafni, A., Pacini, E., Nepi, M. (2005) Pollen and stigma biology, in: Dafni, A., Kevan, P.G., Husband, B.C. (Eds.), Practical Pollination Biology. Enviroquest Ltd., Cambridge, Ontario, pp. 83–146
- Dupont, Y. L., Damgaard, C., Simonsen, V. (2011) Quantitative historical change in bumblebee (*Bombus* spp.) assemblages of red clover fields. PLoS One **6**, e25172
- Ellis, A. M., Myers, S. S., Ricketts, T. H. (2015) Do Pollinators Contribute to Nutritional Health? PLoS One **10**, e114805
- Freitas, B. M., Oliveira-Filho, J. H. (2001) Criação racional de mamangavas para polinização em áreas agrícolas. Banco do Nordeste, Fortaleza, BR.
- Freitas, B. M., Oliveira-Filho, J. H. (2003) Ninhos racionais para mamangava (*Xylocopa frontalis*) na polinização do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*). Cienc. Rural. **33**, 1135–1139
- Gallai, N., Salles, J. M., Settele, J., Vaissière, B. E. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. Ecol. Econ. **68**,

810–821

- Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R., Cunningham, S. A., et al. (2013) Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. *Science* **339**, 1608–1611
- Gathamann, A., Tschardt, T. (2002) Foraging ranges of solitary bees. *J. Anim. Ecol.* **71**, 757–764
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., Toulmin, C. (2010) Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* **327**, 812–818
- Greenleaf, S. S., Kremen, C. (2006) Wild bees enhance honey bees' pollination of hybrid sunflower. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 13890–13895
- Hanley, N., Breeze, T. D., Ellis, C., Goulson, D. (2015) Measuring the economic value of pollination services: Principles, evidence and knowledge gaps. *Ecosyst. Serv.* **14**, 1–9
- Hogendoorn, K., Steen, Z., Schwarz, M. P. (2000) Native Australian carpenter bees as a potential alternative to introducing bumble bees for tomato pollination in greenhouses. *J. Apic. Res.* **39**, 67–74
- Javorek, A. S. K., Mackenzie, K. E., Kloet, Vander, S. P. (2002) Comparative Pollination Effectiveness Among Bees (Hymenoptera: Apoidea) on Lowbush Blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **95**, 345–351
- 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
- Junqueira, C. N., Yamamoto, M., Oliveira, P. E., Hogendoorn, K., Augusto, S. C. (2013) Nest management increases pollinator density in passion fruit orchards. *Apidologie* **44**, 729–737

- Kavati, R. (1998) Florescimento e frutificação do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), in: Ruggiero, C., (Ed.), Maracujá do plantio à colheita. Funep, Jaboticabal, pp. 107–129
- Keasar, T. (2000) The spatial distribution of nonrewarding artificial flowers affects pollinator attraction. *Anim. Behav.* **60**, 639–646
- Klatt, B. K., Holzschuh, A., Westphal, C., Clough, Y., Smit, I., Pawelzik, E., Tscharnkte, T. (2014) Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proc. Biol. Sci.* **281**, 20132440
- Klein, A., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Tscharnkte, T. (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. Biol. Sci.* **274**, 303–313
- Magalhães, C. B., Freitas, B. M. (2012) Introducing nests of the oil-collecting bee *Centris analis* (Hymenoptera: Apidae: Centridini) for pollination of acerola (*Malpighia emarginata*) increases yield. *Apidologie* **44**, 234–239
- Maloof, J. E., Inouye, D. W. (2000) Are nectar robbers cheaters or mutualists? *Ecology* **81**, 2651–2661
- Nascimento, T. B., Ramos, J. D., Menezes, J. B. (1999) Características físicas do maracujá-amarelo produzido em diferentes épocas. *Pesqui. Agropecu. Bras.* **34**, 2353–2358
- Oliveira-Filho, J. H., Freitas, B. M. (2003) Colonização e biologia reprodutiva de (*Xylocopa frontalis*) em um modelo de ninho racional. *Cienc. Rural.* **33**, 693–697
- Pereira, M., Garófalo, C. A. (2010) Biologia da nidificação de *Xylocopa frontalis* e *Xylocopa grisescens* (Hymenoptera, Apidae, Xylocopini) em ninhos-armadilha. *Oecol. Aust.* **14**, 193–209
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W. E. (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* **25**, 345–353

- Pretty, J. (2008) Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **363**, 447–465
- Ricketts, T. H., Sciences, B. (2004) Tropical Forest Fragments Enhance Pollinator Activity in Nearby Coffee Crops. *Conserv. Biol.* **18**, 1262–1271
- Rosa, R., Lima, S. C. C., Assunção, W. L. (1991) Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *S & N* **3**, 91-108
- Sazima, I., Sazima, M. (1989) Mamangavas e irapuás (Hymenoptera, Apoidea): visitas, interações e consequências para polinização do maracujá (Passifloraceae). *Rev. Bras. Entomol.* **33**, 109-118
- Silveira, M. V., Abot, A. R., Nascimento, J. N., Rodrigues, E. T., Rodrigues, S. R., Puker, A. (2012) Is manual pollination of yellow passion fruit completely dispensable? *Sci. Hortic.* **146**, 99–103
- Steward, P. R., Shackelford, G., Carvalheiro, L. G., Benton, T. G., Garibaldi, L. A., Sait, S.M. (2014) Pollination and biological control research: are we neglecting two billion smallholders. *Agric. Food Secur.* **3**, 5
- Thomson, J. D., Goodell, K. (2001) Pollen removal and deposition by honeybee and bumblebee visitors to apple and almond flowers. *J. Appl. Ecol.* **38**, 1032–1044
- Vaissière, B. E., Freitas, B. M., Gemmill-Herren, B. (2011) Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use. (FAO) Food and Agriculture Organization, Roma, IT.
- Vicens, N., Bosch, J. (2000) Weather-Dependent Pollinator Activity in an Apple Orchard, with Special Reference to *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae and Apidae). *Environ. Entomol.* **29**, 413–420
- Wallace, H. M., Lee, L. S. (1999) Pollen source, fruit set and xenia in mandarins *J. Hortic. Sci. Biotech.* **74**, 82–86

- Westerkamp, C. (1991) Honeybees are poor pollinators - why? *Plant Syst. Evol.* **177**, 71–7
- Wilcock, C., Neiland, R. (2002) Pollination failure in plants: Why it happens and when it matters. *Trends Plant Sci.* **7**, 270–277
- Winfree, R., Williams, N. M., Gaines, H., Ascher, J. S., Kremen, C. (2008) Wild bee pollinators provide the majority of crop visitation across land-use gradients in New Jersey and Pennsylvania, USA. *J. Appl. Ecol.* **45**, 793–802
- Yamamoto, M., Da Silva, C. I., Augusto, S. C., Barbosa, A. A. A., Oliveira, P. E. (2012) The role of bee diversity in pollination and fruit set of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* forma *flavicarpa*, Passifloraceae) crop in Central Brazil. *Apidologie*. **43**, 515–526
- Zar, J. H. (2000) Biostatistical analysis, fifth ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

Capítulo 3

Effect of nest management on niche food breadth of *Xylocopa frontalis*⁴

⁴A formatação dessa seção obedece parcialmente às normas do periódico *Apidologie*.

Effect of nest management on niche food breadth of *Xylocopa frontalis*

Junqueira C.N., Rabelo, L.S., Bastos, E.M.A.F., Augusto, S.C.

Abstract

Xylocopa bees provide efficient pollination service for yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f *flavicarpa* Degener), for presenting appropriate size and nectar collection behavior. The most cost-effective alternative to increase production of yellow passion fruit is the management of these pollinators and more specifically the transfer of nests to crop areas. Passion fruit only accounts for nectar source for these pollinators and the use of pollen sources in the surrounding of crop areas is essential to maintain these pollinators. Thus, the aim of this study was to assess food niche breadth of *Xylocopa frontalis* and the similarity in the use of pollen sources in a breeding area and in yellow passion fruit crops. We evaluated larval food samples from nests located in a breeding area (n=10 nests) and in two yellow passion fruit crops (n_{A1}=4 nests; n_{A2}=4 nests) during flowering period between November 2011 and June 2012. Based on pollen analysis of larval food samples of *X. frontalis*, it was possible to establish the differentiated food niche breath, the low similarity and the shift in pollen sources between the study areas, which suggest that this pollinator species is highly plastic regarding pollen collection. This result contributes to design more suitable management strategies including the availability of suitable pollen sources in the surrounding of crop areas to maintain and increase *Xylocopa* bees in a long term.

Keywords: Carpenter bees, pollen analysis, beta diversity, poricidal anthers.

Introduction

Bees of the genus *Xylocopa* present worldwide distribution with higher diversity in the tropics and 50 species are described in Brazil (Hurd 1978; Gerling et al. 1989). *Xylocopa* bees are commonly known as carpenter bees for exhibiting nesting behavior in dry plant tissue as dead trees or trap-nests made of bamboo canes (Camillo 2003; Junqueira et al. 2012). Nest availability, the texture and size of nesting substrate limit the occurrence of these species, and are more important than food sources distribution (Gerling et al. 1989) and taxonomic preference for specific substrate types (Bernardino and Gaglianone 2008).

Carpenter bees present multivoltinism and are considered polilecty (Gerling et al. 1989; Raju and Rao 2006; Bernardino and Gaglianone 2008). However, plants with poricidal anthers are the main pollen sources for these bees, such as the species of families Solanaceae, Fabaceae and Bignoniaceae (Buchmann 1983; Bernardino and Gaglianone 2008; Silva et al. 2010).

Large bees of the genus *Xylocopa* provide efficient pollination service for yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener), for presenting appropriate size and nectar collection behavior which includes spin around the flower nectary while touching the anthers and performing pollen transfer between flowers of different individuals (Siqueira et al. 2006; Camillo 2003).

Yellow passion fruit presents hermaphrodite, protandrous and self-incompatible flowers, and relies on cross-pollination for fruit formation (Akamine and Girolami 1957; Corbet and Willmer 1980). Brazil is a leading global producer of yellow passion fruit (Agrianual 2014), however the country has a productive potential unexploited due to the low density of *Xylocopa* bees in crop areas (Camillo 2003). The most cost-effective

alternative to increase production is the management of these pollinators and more specifically the introduction of nests in crop areas (Camillo 2003; Freitas and Oliveira-Filho 2003; Junqueira et al. 2012).

Some species of *Xylocopa* present a great management potential. They can be attracted by using pre-existing cavities for nest building such as trap-nests made from bamboo canes (Pereira and Garófalo 2010; Junqueira et al. 2012). The management of *Xylocopa* bees in yellow passion fruit crops basically consists of the transfer of nests from a breeding area to a crop area. This procedure promotes the increase of bee visitation rate and, consequently, the pollination services (Junqueira et al. 2012,2013; Chapter 2).

Yellow passion fruit only accounts for nectar source for *Xylocopa* bees, considering the low proportion of pollen grains of this species founded in the pollen analyze of larval food (Bernardino and Gaglianone 2008). Then, the use of pollen sources in the surrounding of crop areas is essential to maintain these pollinators in those areas.

In order to improve pollinators' management of yellow passion fruit it is necessary the maintenance of these bees for a long-term in crop areas. Therefore, in addition to providing nesting substrate, it is indispensable to evaluate if the crop areas provide food resources used by these pollinators. Thus, the aim of this study was to assess the food niche breadth of *Xylocopa frontalis* and the similarity in the use of pollen sources in two distinct systems: (i) a breeding area of *X. frontalis*, and (ii) two crops areas of yellow passion fruit.

Material and methods

Study areas

Água Limpa Experimental Farm, located in Uberlândia-MG (19°05'48"S/48°21'05"O), was considered the breeding area. The experimental farm has 300 hectares comprising a mosaic of savannic-forested phytophysiognomies, and experimental crops including yellow passion fruit (Neto 2008).

Nests of *X. frontalis* from the breeding area were introduced into two yellow passion fruit commercial crop areas located in Araguari-MG (A₁: 18°36'15,69"S/48°15'25,34"O, A₂: 18°32'9,50"S/48°17'18,50"O). The crop areas size ranged from 1 to 4 hectares and were 60 km distant on averaged from the breeding area. Both crop areas were embedded in a highly agricultural context with small patches of natural vegetation.

The breeding and crop areas are located in the Cerrado biome and presents tropical climate characterized by two well defined seasons, a dry season (April–September) and a rainy season (October–March; Rosa et al. 1991).

Nest management and sample collection of larval food

The management of *X. frontalis* nests consisted of the introduction of nests from a breeding area to two crops of yellow passion fruit. In order to assess the effect of the management of nests on food niche breadth of *X. frontalis*, larval food samples were collected from nests located in the breeding area (n=10 nests) and in the two yellow passion fruit crops (n_{A1}=4 nests; n_{A2}= 4 nests) during their flowering period, between November 2011 and June 2012.

All females present in the nests from the breeding area were individually marked before transference to the yellow passion fruit crops. Therefore, it was possible to follow up nest activity of these bees and obtain food samples from brood cells provisioning by these females.

Pollen analysis

We collected larval food samples for pollen analyzes purposes in the breeding area before nests' introduction and in the two crop areas after introduction of *X. frontalis* nests. Larval food was removed from active nests by introducing pollen collectors made of wooden sticks and pins at the nest entrance.

The samples collected presented pollen grains from all layers of larval food in one broad cell per nest. The material collected was stored in 2 mL of 70% alcohol, and processed using the acetolysis method (Erdtman 1960). This chemical process exposes the characteristics necessary to identify the pollen sources.

For each sample we prepared three voucher slides (n=54) and after the analysis, the slides were deposited in the pollen slide collection of the Laboratory of Ecology and Behavior of Bees of the Federal University of Uberlândia.

Pollen grains were identified based on specialized literature (Salgado-Labouriau 1973; Roubik and Moreno 1991; Bastos et al. 2008), database of pollen grain images (Bastos et al. 2008) and by comparison with the specimens cataloged as reference material in the Laboratory of Plant Morphology, Microscopy and Image of Federal University of Uberlândia. In this study we used the plant taxonomic classification proposed by the Angiosperm Phylogeny Group (APG II) (Souza and Lorenzi 2005).

After pollen identification, we performed quantitative analysis using a magnification of 200×. We divided each slide in four quadrants, in which we count

approximately 100 pollen grains ($n=400$ per slide), totaling 1,200 pollen grains per nest. We counted all pollen grain presented in a quadrant with less than 100 pollen grains and we expressed as percentages of the pollen sum (Vilhena et al. 2012). The pollen types whose relative abundance in each sample was less than 3% were considered either contaminants or only sources of nectar. These sources were excluded from the analysis.

Statistical Analysis

We calculated the niche breadth of breeding and crops areas using the Shannon-Wiener index (H'): $H' = - \sum (p_k \times \ln \text{ of } p_k)$, as proposed by Camilo and Garófalo (1989), where p_k represents the proportion of pollen types present in the larval food. We also determined, for each study area, the uniformity of pollen types in the samples, according to the Pielou evenness index (J'): $J' = H'/H'_{\max}$, where H'_{\max} represents the logarithm of the total number of pollen types present in the each area. This evenness index range between 0 and 1, and values near 1 represent high uniformity in the pollen collection, i.e., the pollen types were collected at similar proportions.

We used beta diversity index (β_w), proposed by Whittaker (1960), to verify the possible change in the use of pollen sources by *X. frontalis*, comparing the breeding area and yellow passion fruit crops. This index ranges from 0, when two samples do not present any difference in species composition and 2, when this difference is maximum. The beta diversity index is calculated as follows $(S/\alpha)-1$, where S is the total number of species and α is the mean number of total species in each area (Koleff et al. 2003).

We used one sample t test of Hutcheson to assess differences between the niche breadths of *X. frontalis* and the Mann-Whitney test to assess differences between the mean number of pollen types used in each brood cell in the breeding area and yellow passion fruit crops (A_1 and A_2). We use chi-square tests for each area separately to verify

possible differences in the relative abundance of pollen sources, according to the type of anthers (poricidal and non-poricidal). All analyzes were performed using PAST 2:13 software (Hammer et al. 2001) and Systat 10.2 © (2002), according to Zar (2010).

Results

Pollen sources used by *X. frontalis* in the breeding area and in the two passion fruit crops included eleven species belonging to ten plant families and three pollen types that we could not identify the botanical family. Considering the breeding area, pollen types with the highest relative abundance (RA) and frequency of occurrence (FO) were *Solanum* sp. (RA=64.34%; FO=70%) and *Senna* sp. (RA=25.36%; FO=50%). For the crop area A₁, *Euphorbia* sp. (RA=61.58%; FO=100%) and *Senna* sp. (RA=22.19%; FO=50%) were the pollen types with the highest relative abundance (RA) and frequency of occurrence (FO).

The crop area A₂ presented a high uniformity in pollen collection and four pollen types with similar relative abundance (RA) and frequency of occurrence (FO): *Caryocar brasiliense* (RA=21.82%; FO=25%), *Senna* sp. (RA=25.47%; FO=25%), *Marcetia* sp. (RA=25.55%; FO=25%) and *Vochysia* sp. (RA=23.59%; FO=25%) (Table 1, Figure 1).

Table 1. Pollen types identified in the larval food samples of *Xylocopa frontalis* in the breeding and in yellow passion fruit crop areas. FO: frequency of occurrence, RA: relative abundance, H': food-niche breadth given by the Shannon-Wiener index, J': uniformity in the collection of resources calculated by the Pielou index.

Sudy area	Breeding Area		Crop Area A₁		Crop Area A₂	
Pollen Source	FO	RA	FO	RA	FO	RA
ANACARDIACEAE						
sp. 1	-	-	-	-	25.00	3.57
sp. 2	-	-	25.00	2.32	-	-
BORAGINACEAE						
<i>Cordia</i> sp.	10.00	7.18	-	-	-	-
CARYOCARACEAE						
<i>Caryocar brasiliense</i>	-	-	-	-	25.00	21.82
EUPHORBIACEAE						
<i>Euphorbia</i> sp.	-	-	100.00	61.58	-	-
FABACEAE						
<i>Senna</i> sp.	50.00	25.36	25.00	4.31	25.00	25.47
LYTHRACEAE						
<i>Lafoensia</i> sp.	10.00	0.37	-	-	-	-
MELASTOMATACEAE						
<i>Marcetia</i> sp.	-	-	50.00	22.19	25.00	25.55
MYRTACEAE						
sp. 3	-	-	25.00	9.58	-	-
SOLANACEAE						
<i>Solanum</i> sp.	70.00	64.34	-	-	-	-
VOCHYSIACEAE						
<i>Vochysia</i> sp.	-	-	-	-	25.00	23.59
sp. 4	10.00	0.99	-	-	-	-
sp. 5	10.00	1.42	-	-	-	-
sp. 6	10.00	0.34	-	-	-	-
Richness	7		5		5	
H'	0.97		1.08		1.49	
J'	0.50		0.67		0.93	

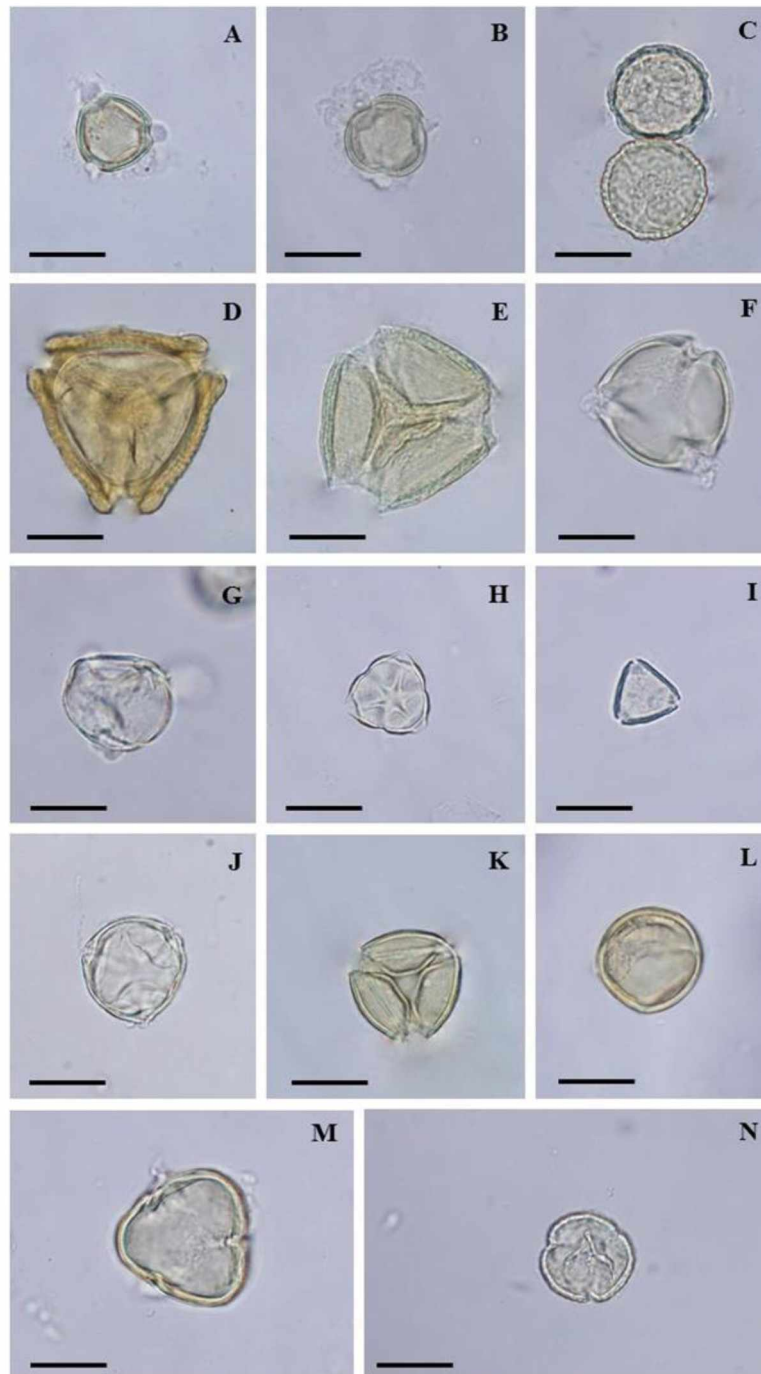


Figure 1. Pollen types used by *Xylocopa frontalis* in the breeding and crop areas. **A:** sp. 1 (Anacardiaceae); **B:** sp. 2 (Anacardiaceae); **C:** *Cordia* sp.; **D:** *Caryocar brasiliense*; **E:** *Euphorbia* sp.; **F:** *Senna* sp.; **G:** *Lafoensia* sp.; **H:** *Marcetia* sp.; **I:** sp. 3 (Myrtaceae); **J:** *Solanum* sp.; **K:** *Vochysia* sp.; **L:** sp. 4; **M:** sp. 5; **N:** sp. 6. Black bar represents 50µm.

We observed predominance in the pollen use from plants with poricidal anthers in the breeding area (96%) ($\chi^2 = 11,099.180$; $df = 1$, $p < 0.001$). Regarding crop areas, there was predominance in the use of plants with non-poricidal anther in the crop A₁ (70%) ($\chi^2 = 11,099.180$; $df = 1$, $p < 0.001$) and in the crop A₂, there was no significant difference in abundance among use of plants with poricidal and non-poricidal anthers ($\chi^2 = 2.105$; $df = 1$; $p = 0.147$).

Pollens grains from the following botanical families, Passifloraceae, Sapindaceae, Bignoniaceae, Bombacaceae and Fabaceae, were present in each larval sample in lower proportions (< 3%) and, therefore were considered as exclusively nectar sources and were excluded from the analyses regarding pollen sources.

Separated analyzes indicated that *Xylocopa* bees use few pollen types for provisioning each brood cell. In the breeding area, the mean pollen types per nest were 1.70 (± 1.06). In the crop areas A₁ and A₂, the averages were 2.25 (± 1.26) and 1.25 (± 0.50), respectively. There were no significant differences between the mean number of pollen types per nest between breeding area and crop area A₁ ($U_{10,4} = 26.5$; $p = 0.320$) and between breeding area and crop area A₂ ($U_{10,4} = 16$; $p = 0.507$).

We found higher values of food niche breadth in the crop areas ($H'_{A1} = 1.08$; $H'_{A2} = 1.49$) comparing to the breeding area ($H' = 0.97$). There was a significant difference between food niche breadth of the breeding area and the crop area A₁ ($t = -7.54$; $df = 9212$; $p < 0.001$) and between the breeding area and the crop area A₂ ($t = -53.86$; $df = 17658$; $p < 0.001$). We also found a higher uniformity in pollen collection in crop areas ($J'_{A1} = 0.67$; $J'_{A2} = 1.49$) than in the breeding area ($J' = 0.50$). Considering the quantitative data, there was a low similarity in the use of pollen sources between the breeding area and the crop areas ($A_2 = 4.31\%$; $A_2 = 25.36\%$).

Based on the qualitative analysis, we observed a significant change in the composition of pollen sources among the breeding area and the crop areas. Both crop areas presented five species as pollen source and only shared one species with the breeding area. We found the same value of beta diversity ($\beta_w=1.33$) for both crop areas, suggesting the occurrence of a turnover between pollen sources used by *X. frontalis* (Figure 2).

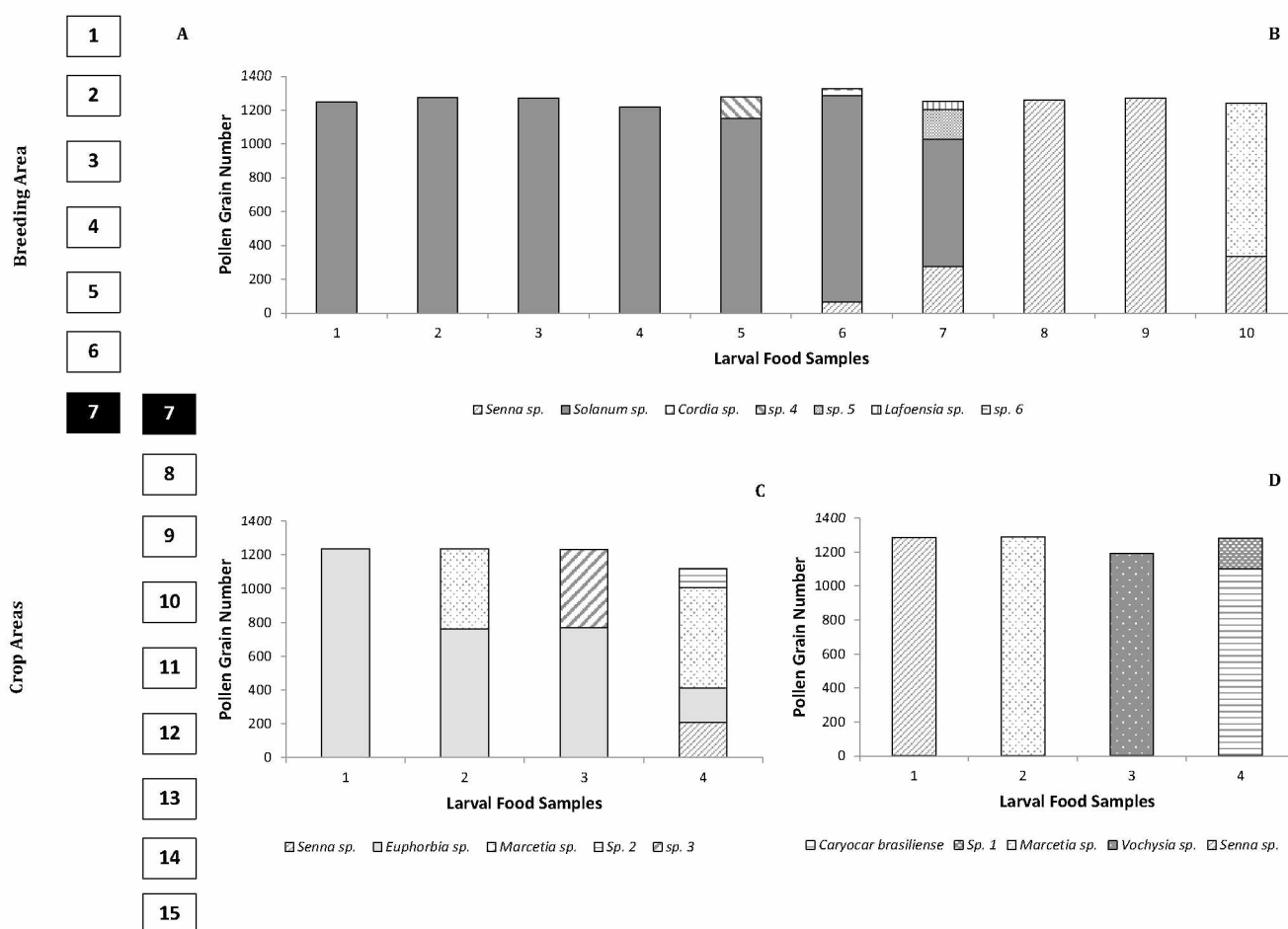


Figure 2. (A) Turnover of pollen sources used by *Xylocopa frontalis* between the breeding area and the crop areas (A₁ and A₂). White rectangles represent exclusive species in the breeding area and crop areas (Crop areas - A₁: white rectangles 8 to 11 and A₁: white rectangles 12 to 15). Black rectangles represent common species between the breeding area and crop areas. Abundance of pollen grains in the breeding area (B) and in the crop areas A₁ (C) and A₂ (D).

Discussion

Based on pollen analysis of larval food of *X. frontalis*, it was possible to establish a differentiated food niche breadth, low similarity and a shift in pollen sources among the study areas which suggest that this pollinator species is highly plastic regarding pollen collection.

Considering all study areas, the main pollen sources used by *X. frontalis* belonged to the botanical families Solanaceae, Fabaceae, Melastomataceae and Euphorbiaceae. However in the breeding area, *X. frontalis* focused the pollen use in species with poricidal anthers such as species from the families Solanaceae and Fabaceae, which is consistent with the main pollen sources for *Xylocopa* bees (Raju and Rao 2006; Bernardino and Gaglianone 2008; Silva et al. 2010). Plants with poricidal anthers require body vibration to remove the pollen grains (Buchmann 1978, Souza and Lorenzi 2005). Large bees as *X. frontalis* can vibrate their bodies spending lower energy than smaller species, because they can produce lower buzzing frequencies during pollen collection (Burkart et al. 2011).

Although *X. frontalis* can be considered a plastic species regarding pollen sources, we observed a concentration of pollen collection in few sources, considering each area. This same pattern is also observed for other solitary bee species, such as *Centris* (*Heterocentris*) *analis*, *Centris* (*Hemisiella*) *tarsata* and *Tetrapedia diversipes* (Dórea et al. 2010a,b; Menezes et al. 2012; Rabelo et al. 2012, 2014).

Additionally, on individual level, the small number of pollen types per brood cell of all study areas confirms that *X. frontalis* also focus the pollen collection in few plant species. This behavior is probably related with recognizable scent mark used by solitary bees when foraging and with the high degree of floral constancy for pollen collection

presented by bees, i.e., each individual exploits few pollen sources repeatedly (Thorp 1979). This foraging behavior benefits plant species because it increases the probability of pollination, while for the bees it represents a mechanism to save energy in trying to locate new food sources and to avoid resource competition with other bees (Thorp 1979; Chittka et al. 1999; Gilbert et al. 2001).

We also observed a difference in the composition of plant communities between the study areas. This pattern was indicated by the high beta diversity values, which expresses a shift in the composition of plant species and may be caused by a variation in environmental conditions (Legendre et al. 2005; Anderson et al. 2011).

Despite the focus on pollen collection in plants with poricidal anthers in the breeding area, there was a shift to non-poricidal species such as from the families Euphorbiaceae, Caryocaraceae and Vochysiaceae (Gribel and Hay 1993; Gonçalves et al. 2013), especially in the crop area A₁. This shift in pollen collection between poricidal to non-poricidal plant species may be associated with availability of these resources in each study area. The great majority of angiosperms presents non-poricidal anthers, in contrast to poricidal anther that are present in 6 to 8% of species (Buchmann 1983). The study areas presented contrasting differences regarding the proportion of natural vegetation, as the crop areas are embedded in a highly agricultural context, i.e., agriculture areas with reduced and fragmented natural vegetation areas (Klink and Machado 2005; IBGE 2013). Therefore, it is possible that the pollen sources availability changed among the areas.

Differences regarding food-niche breadth, low similarity and high beta diversity were associated with variations in the availability of food resources among the areas, probably due the changes in the natural vegetation surrounding. These changes can promoted differences in the plant community and limit the food resources availability in

crop areas, which could lead in a displacement of individuals to other sources of food resources (Rogers et al. 2013). As a possible consequence of this process, we could expect the differences founded in this study regarding food-niche breadth. Therefore, our results suggest that *X. frontalis* was able of adjusting to the availability of pollen sources to ensure larval provision, and the maintenance of the population after the transference of nests.

Our study focused on pollen sources used for larval supply. However, it is noteworthy that while pollen of passion fruit was found in all the samples, it was not considered pollen source due to the low proportion found (<3%). It confirms that this plant species is exploited by *X. frontalis* only as nectar source, as record at behavior observations at crop areas (Siqueira et al. 2006). This result involves direct implications for the management of this species, as it is indispensable to maintain in the surrounding of crop areas the availability of plant species sources of pollen and also the availability of nectar sources in the non-flowering period of yellow passion fruit to sustain these pollinators.

In conclusion, our study confirms that *X. frontalis* is highly plastic regarding pollen collection. This generalist behavior associate to the success of nests introduction contributes to design more suitable management strategies to maintain and increase pollinators' population in yellow passion fruit crops for a long term.

Acknowledgments

This study was supported by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). We are grateful to the yellow passion fruit producers from Araguari-MG for allowing our field work and to employees of the Água Limpa Experimental Farm for technical help. We are thankful to Amanda Costa for the help in pollen analysis. C. N. Junqueira received a fellowship from FAPEMIG. L.S. Rabelo received research fellowship from CAPES, and S.C. Augusto received research fellowship from CNPq (307222/2012-8).

References

- Agrianual, Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira (2014) FNP, São Paulo, BR.
- Akamine, E. K., Girolami, G. (1957) Problems in fruit set in yellow passion fruit. Hawaii Farm Science **14**(2), 3-4
- Anderson, M.J., Crist, T. O., Chase, J. M., Vellend, M., Inouye, B. D. et al. (2011) Navigating the multiple meanings of β diversity: a roadmap for the practicing ecologist. Ecol. Lett. **14**(1), 19-28
- Bastos, E. M. A. F, Thiago P. S. S., Santana R. M., Travassos, A. (2008) Banco de imagens de grãos de pólen: mais de 130 espécies de plantas apícolas [Database of images of pollen grains: over 130 species of honey plants] [CD-ROM]
- Bernardino, A. S., Gaglianone, M. C. (2008) Nest distribution and nesting habits of *Xylocopa ordinaria* Smith (Hymenoptera, Apidae) in a restinga area in the northern Rio de Janeiro State, Brazil. Rev. Bras. Entomol. **52**, 434-440

- Buchmann, S. L. (1978). A biophysical model for buzz pollination in angiosperms. *J. theor. biol.* **72**, 639-657
- Buchmann, S. L. (1983) Buzz pollination in angiosperms, in: Jones, C. E. and Little, R. J. (Eds.), *Handbook of experimental pollination biology*. Scientific and Academic Editions, New York, pp.73-114
- Burkart, A., Lunau, K., Schlindwein, C. (2011) Comparative bioacoustical studies on flight and buzzing of neotropical bees. *J. Pollinat. Ecol.* **6**, 118-124
- Camillo, E. (2003) *Polinização de maracujá*. Holos Editora, Ribeirão Preto.
- Camillo, E., Garófalo, C. A. (1989) Analysis of the niche of two sympatric species of *Bombus* (Hymenoptera, Apidae) in southeastern Brazil. *J. Trop. Ecol.* **5**, 81-92
- Chittka, L., Thomson, J. D., Waser, N. M. (1999) Flower constancy, insect psychology, and plant evolution. *Naturwissenschaften* **86**, 361-377
- Corbet, S. A., Willmer, P. G. (1980) Pollination of the yellow passionfruit: nectar, pollen and carpenter bees. *J. Agr. Sci.* **95**, 655-666
- Dórea, M.C., Aguiar, C. M. L., Figueroa, L. E. R., Lima, L. C., Santos, F. A. R. (2010a) Residual pollen in nests of *Centris analis* (Hymenoptera, Apidae, Centridini) in an area of Caatinga vegetation from Brazil. *Oecol. Aust.* **14**, 232-237
- Dórea, M.C., Aguiar, C. M. L., Figueroa, L. E. R., Lima, L. C., Santos, F. A. R. (2010b) Pollen residues in nests of *Centris tarsata* Smith (Hymenoptera, Apidae, Centridini) in a tropical semiarid area in NE Brazil. *Apidologie* **41**, 557-567
- Erdtman, G. (1960) The acetolized method: A revised description. *Svensk Bot. Tidskr.* **54**, 561-564
- Freitas, B. M., Oliveira-Filho, J. H. (2003) Ninhos racionais para mamangava (*Xylocopa frontalis*) na polinização do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*). *Cienc. Rural.* **33**, 1135-1139

- Gerling, D., Velthuis, H. H. W., Hefetz, A. (1989) Bionomics of the Large Carpenter Bees of the Genus *Xylocopa*. Annu. Ver. Entomol. **34**, 163-190
- Gilbert, F., Azmeh, S., Barnard, C., Behnke, J., Collins, S. A., et al. (2001) Individually recognizable scent marks on flowers made by a solitary bee. Anim. Behav. **6**, 217-229
- Gonçalves, D. J. P., Romero, R., Yamamoto, K. (2013) Vochysiaceae no Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. Rodriguésia **64**(4), 863-875
- Hammer, Ø., Haper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001) PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. Palaeontol. Electron. **4**, 1-9
- Hurd, P. D. (1978). An annotated catalog of the carpenter bees (genus *Xylocopa* Latr.) of the Western Hemisphere (Hymenoptera, Anthophoridae). Smithsonian Institution Press, Washington D. C.
- IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2013) Manual Técnico de Uso da Terra. 3. ed., Rio de Janeiro.
- 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
- Junqueira, C. N., Yamamoto, M., Oliveira, P. E., Hogendoorn, K., Augusto, S. C. (2013) Nest management increases pollinator density in passion fruit orchards. Apidologie **44**, 729–737
- Klink, C.A., Machado, R.B. (2005) Conservation of the Brazilian Cerrado. Conserv. Biol. **19**(3), 707-713
- Koleff, P., Gaston, K. J., Lennon, J. J. (2003) Measuring beta diversity for presence-absence data. J. Anim. Ecol. **72**, 367-382

- Legendre, P., Borcard, D., Peres-Neto, P. (2005) Analyzing beta diversity: partitioning the spatial variation of community composition data. *Ecol. Monogr.* **75**(4), 435-450
- Menezes, G. B., Gonçalves-Esteves, V., Bastos, E. M. A. F., Augusto, S. C., Gaglianone, M. C. (2012). Nesting and use of pollen resources by *Tetrapedia diversipes* Klug (Apidae) in Atlantic Forest areas (Rio de Janeiro, Brazil) in different stages of regeneration. *Rev. Bras. Entomol.* **56**, 86–94
- Neto, P.L. (2008) Levantamento planimétrico nº 36.243, Prefeitura de Uberlândia, Minas Gerais.
- Pereira, M., Garófalo, C. A. (2010) Biologia da nidificação de *Xylocopa frontalis* e *Xylocopa grisescens* (Hymenoptera, Apidae, Xylocopini) em ninhos-armadilha. *Oecol. Aust.* **14**, 193-209
- Rabelo L.S., Vilhena, A. M. G. F., Bastos, E. M. A., Augusto, S. C. (2012) Larval food sources of *Centris (Heterocentris) analis* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera: Apidae), an oil-collecting bee. *J. Nat. Hist.* **46**, 1129-1140
- Rabelo L.S., Vilhena, A. M. G. F., Bastos, E. M. A., Augusto, S. C. (2014) Differentiated use of pollen sources by two sympatric species of oil-collecting bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Nat. Hist.* **48**, 1595-1609
- Raju, A. J. S., Rao, S. P. (2006) Nesting habits, floral resources and foraging ecology of large carpenter bees (*Xylocopa latipes* and *Xylocopa pubescens*) in India. *Current Sci.* **90**(9), 1210-1217
- Rogers, S. R., Cajamarca, P., Tarpy, D. R., Burrack, H. J. (2013) Honey bees and bumble bees respond differently to inter- and intra-specific encounters. *Apidologie* **44**, 621-629
- Rosa, R., Lima, S. C. C., Assunção, W. L. (1991) Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *S & N.* **3**, 91-108

- Roubik, D. W., Moreno, J.E. (1991) The pollen and spores of Barro Colorado Island. Missouri Botanical Garden, St Louis - Missouri.
- Salgado-Labouriau, M. L. (1973) Contribuição à palinologia dos Cerrados [Contribution to the palynology of Cerrado]. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Silva, C. I., Ballesteros, P. L. O., Palmero, M. A., Bauermann, S. A., Evaldit, A. C. P., Oliveira, P. E. (2010) Catálogo polínico - palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xylocopa* no Triângulo Mineiro. EDUFU, Uberlândia.
- Siqueira, K. M. M., Martins, C. F., Schlindwein, C., Kill, H. P., Monteiro, S. P. et al. (2006) Associação entre o comportamento de forrageamento de espécies de *Xylocopa* e morfologia floral de *Passiflora edulis* SIMS *flavicarpa* deg, em área irrigada no Vale do Submédio São Francisco, in: Santana, W. C., Lobo C.H. and Hartfelder, K. H. (Eds.), Anais do VII Encontro sobre Abelhas [Proceedings of the 7th Meeting on Bees]; 2006 July 12–15; Brazil: Ribeirão Preto-SP.
- Souza, V.C., Lorenzi, H. (2005) Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Plantarum, Nova Odessa.
- Systat (2002) Systat Software Inc., version 10.2. San Jose, CA.
- Thorp, R. W. (1979) Structural, behavioural, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. Ann. Mo. Bot. Gard. **66**, 788–812
- Vilhena, A. M. G. F., Rabelo, L. S., Bastos, E. M. A. F., Augusto, S. C. (2012) Acerola pollinators in the savanna of Central Brazil: temporal variations in oil-collecting bee richness and a mutualistic network. Apidologie **43**, 51-62
- Whittaker, R. H. (1960) Vegetation of the Siskiyou mountains, Oregon and California. Ecol. Monogr. **30**, 279–338
- Zar, J. H. (2010) Biostatistical analysis, fifth ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

Considerações Finais

Considerações Finais

O conjunto de informações obtidas nesse trabalho contribui para a conservação e uso sustentável de polinizadores em áreas de cultivo agrícola. Práticas integradas de manejo podem representar uma alternativa importante para a conservação dessas espécies e assegurar a produtividade agrícola.

Com a utilização de uma meta-análise, ferramenta que permite analisar dados de trabalhos independentes a fim de responder uma questão central, nós conseguimos identificar que *Apis mellifera* e abelhas nativas contribuem de maneira similar para a produção de determinados cultivos com diferentes níveis de dependência de polinização. Tal resultado é importante para o manejo integrado desses polinizadores em cultivos visitados por ambos os grupos e para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de manejo de abelhas nativas e, principalmente, de abelhas solitárias, a fim de manter a produtividade agrícola e garantir a estabilidade dos serviços ecossistêmicos.

Experimentos de manejo com as abelhas solitárias *X. frontalis* e *X. grisescens* confirmaram o potencial dessas espécies para uso na polinização do maracujá-amarelo, por apresentarem alta atratividade em ninhos-armadilha e permanência das fêmeas após a transferência de ninhos entre diferentes áreas. A introdução de ninhos em áreas de cultivo de maracujá-amarelo resultou em um incremento da densidade desses polinizadores e redução da densidade de pilhadores, tendo um efeito positivo na produção e na qualidade dos frutos formados.

Para delinear a quantidade adequada de ninhos a serem introduzidos, consideramos o tamanho da área de cultivo e a porcentagem de polinização natural. A introdução de 8 ninhos/ha em áreas de cultivo com porcentagem de polinização natural menor do que 13% (elevado déficit de polinização) e 4 ninhos/ha em áreas de cultivo

com porcentagem de polinização natural maior do que 13% (baixo déficit de polinização) foi uma estratégia apropriada promover um incremento na densidade desses polinizadores em áreas de cultivo.

Os resultados desse trabalho contribuem para a consolidação de técnicas de manejo de *X. frontalis* e *X. grisescens*, uma vez que é possível criar e aumentar populações desses polinizadores utilizando ninhos-armadilha de baixo custo. Com a introdução de uma quantidade de ninhos adequada é possível alcançar um incremento significativo na produtividade agrícola.

As análises do alimento larval de células de cria de ninhos de *X. frontalis*, em áreas de criação e áreas de cultivo de maracujá-amarelo, indicaram que essa espécie de polinizador é altamente plástica em relação ao uso de fontes de pólen, uma vez que é capaz de alterar as principais fontes de pólen entre diferentes áreas. Tal resultado corrobora a necessidade de manutenção de áreas de vegetação natural no entorno de áreas de cultivos para sustentar populações de polinizadores, principalmente em relação à oferta de pólen, considerando que o maracujá-amarelo é utilizado como uma fonte de néctar.

Ressalta-se ainda que os resultados obtidos subsidiaram a elaboração de um material de divulgação científica com o intuito de disseminar as técnicas de manejo e contribuir tanto para o aumento da produção do maracujá-amarelo como para conservação de seus polinizadores.

Cenários futuros indicam um aumento na demanda mundial de alimentos e, como forma de atender tal demanda, sugerimos o aperfeiçoamento de técnicas de manejo para outras espécies de abelhas nativas, polinizadoras de cultivos agrícolas e, principalmente, a preservação de remanescentes naturais no entorno de áreas de cultivo para a manutenção de populações de polinizadores em longo prazo.

Anexo



Guia Prático para a Criação e Manejo de Polinizadores do Maracujá-Amarelo

Prefácio

Os estudos sobre biologia e manejo de mamangavas visando à conservação e usos dessas abelhas na polinização do maracujá-amarelo tiveram início na Região do Triângulo Mineiro, em 2005, quando fomos contemplados com um projeto aprovado no âmbito do Edital 01/2004-CNPq-PROBIO (Uso sustentável e restauração da diversidade de polinizadores autóctones na agricultura e nos ecossistemas relacionados) coordenado pelo Dr. Paulo Eugênio Oliveira. Nesses mais de 10 anos envolvidos na busca de procedimentos sustentáveis de manejo e conservação de abelhas mamangavas, recebemos apoio financeiro dos seguintes órgãos de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) para o desenvolvimento de projetos em colaboração com pesquisadores e alunos, o que proporcionou a formação de recursos humanos e produção de artigos, trabalhos de monografia, dissertações de mestrado, tese de doutorado e finalmente, este Guia, um produto muito almejado por nós. A ideia principal é transmitir aos produtores todas as informações necessárias para o manejo eficiente dessas abelhas. Além disso, este Guia é uma das maneiras que encontramos de agradecer todos os produtores que gentilmente cederam suas áreas de cultivo para os nossos estudos, a Ebba - Empresa Brasileira de Bebidas e Alimentos S/A que nos apoiou nos contatos com os produtores e aos responsáveis pela fazenda Experimental Água Limpa, nossa área de criação de abelhas mamangavas. Mais especificamente gostaríamos de agradecer às seguintes pessoas: Me. Arthur Carlos Oliveira, Sr. Francisco Célio de Assis, Dra. Esther Margaria Alves Bastos, Me. Henrique Lomônaco Pedroso, Srs. Hércules José de Oliveira e Pedro Paulo Gregol (Ebba), Dra. Laíce Souza Rabelo, Dra. Marcela Yamamoto, Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira e Me. Talles Marques Chaves-Alves.

Esperamos que este Guia seja útil aos produtores que desejam aumentar sua produção por meio de técnicas amigáveis aos polinizadores e a todos os alunos que tenham o interesse de trabalhar com biologia e manejo de polinizadores.

Camila N. Junqueira & Solange C. Augusto

Guia Prático para a Criação e Manejo de Polinizadores do Maracujá-Amarelo

Esse guia prático fornece informações sobre a biologia e o manejo de duas espécies de abelhas, *Xylocopa frontalis* e *Xylcocopa grisescens*, conhecidas comumente como abelhas carpinteiras ou mamangavas-de-toco e que são polinizadores do maracujá-amarelo na região do Triângulo Mineiro. Nele são descritos um conjunto de procedimentos, testados com sucesso em cultivos que visam aumentar a população dessas abelhas e, consequentemente, a produção agrícola e a qualidade dos frutos.

Produção de Maracujá no Brasil e no Triângulo Mineiro

O maracujá-amarelo é uma espécie de interesse comercial e o estado de Minas Gerais destaca-se como um dos principais produtores no Brasil. O processamento de sucos de frutas tropicais está centralizado em poucas unidades de produção no Brasil, sendo que uma das unidades em destaque é o polo de processamento da Região do Triângulo Mineiro, o qual contribui para o desenvolvimento sustentável dessa região.

Importância das abelhas para a produção de frutos do maracujá-amarelo

O maracujá-amarelo apresenta flores grandes com odor intenso e uma grande quantidade de pólen e néctar, o que garante a atratividade dessas flores às abelhas. As flores do maracujá-amarelo também são hermafroditas, ou seja, em uma mesma flor encontramos estruturas femininas (ovários) e masculinas (pólen). Apesar de serem hermafroditas, não são capazes de se autofecundarem, pois são autoincompatíveis, desta

maneira, para a formação do fruto é necessária que ocorra a polinização cruzada (Figura 1).

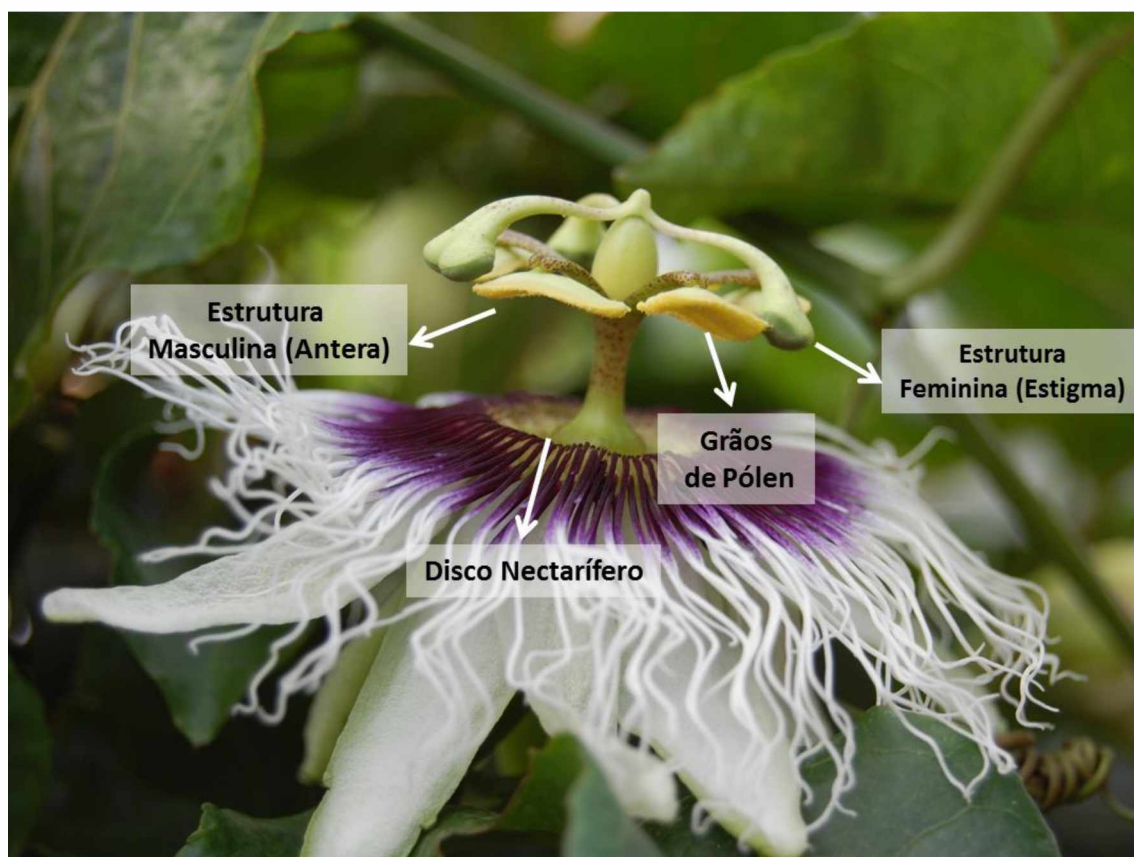


Figura 1. Identificação das partes da flor de maracujá-amarelo (estrutura masculina (anteras), grãos de pólen na antera, disco nectarífero e estrutura feminina (estigmas)).

A polinização cruzada consiste na transferência de grãos de pólen da antera (parte masculina da flor) para o estigma (parte feminina da flor) (Figura 2). É um processo importante para reprodução do maracujá-amarelo e da maioria das plantas, pois promove uma maior variabilidade genética e contribui para a melhor qualidade e maior produção de frutos. A maior parte dos cultivos agrícolas depende da transferência de grãos de pólen entre flores de plantas diferentes (polinização cruzada) para a formação adequada de frutos e sementes. Ainda que os produtores adotem práticas adequadas de manejo de solo, irrigação e controle fitossanitário, caso não ocorra a polinização cruzada, a produção agrícola é prejudicada.



Figura 2. Esquema de transferência de grãos de pólen entre flores de plantas diferentes.

A transferência dos grãos de pólen entre flores de plantas diferentes é o primeiro passo para a formação dos frutos e quanto mais grãos de pólen são depositados no estigma, maior a chance de garantir a formação de frutos maiores e com mais sementes. Caso não ocorra a transferência de grãos de pólen suficientes, as flores murcham e caem (Figura 3).

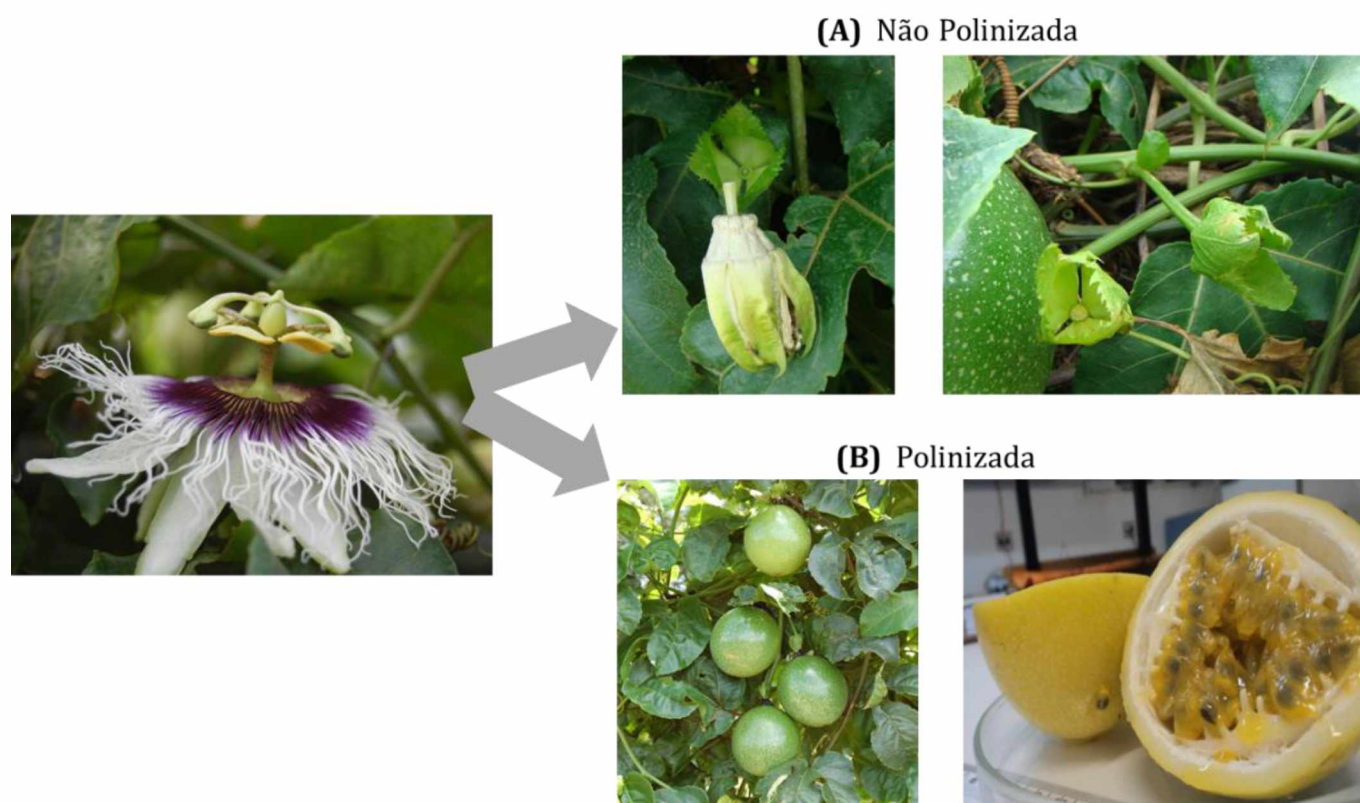


Figura 3. Flor do maracujá-amarelo quando não polinizada (A) e quando polinizada (B).

Os polinizadores do Maracujá-Amarelo

Xylocopa frontalis e *Xylcopa grisescens*, conhecidas popularmente como mamangavas, mamangavas-de-toco, mangango, zangão ou abelhas carpinteiras, são polinizadores efetivos do maracujá-amarelo, ou seja, são as espécies de abelhas que por apresentarem tamanho adequado transferem de maneira efetiva os grãos de pólen entre flores de plantas diferentes de maracujá-amarelo.

As duas espécies apresentam tegumento e pilosidade negros, porém uma delas, *X. grisescens*, pode ser diferenciada pela pilosidade clara na região dorsal do tórax (Figura 4). Como as flores do maracujá-amarelo são grandes, apenas polinizadores de grande porte como estas abelhas, que podem chegar a medir 4,5 centímetros de comprimento, conseguem tocar as estruturas reprodutivas. Ao pousar na flor para coleta de néctar, essas abelhas deslocam-se ao redor do disco nectarífero, local na flor que contem o néctar, e assim, tocam a região dorsal nas anteras, recolhendo conseqüentemente uma grande quantidade de pólen. A transferência de grãos de pólen ocorre quando a abelha visita uma flor de outra planta e deposita pólen na parte feminina da flor ao tocar as estruturas reprodutivas (estigma).

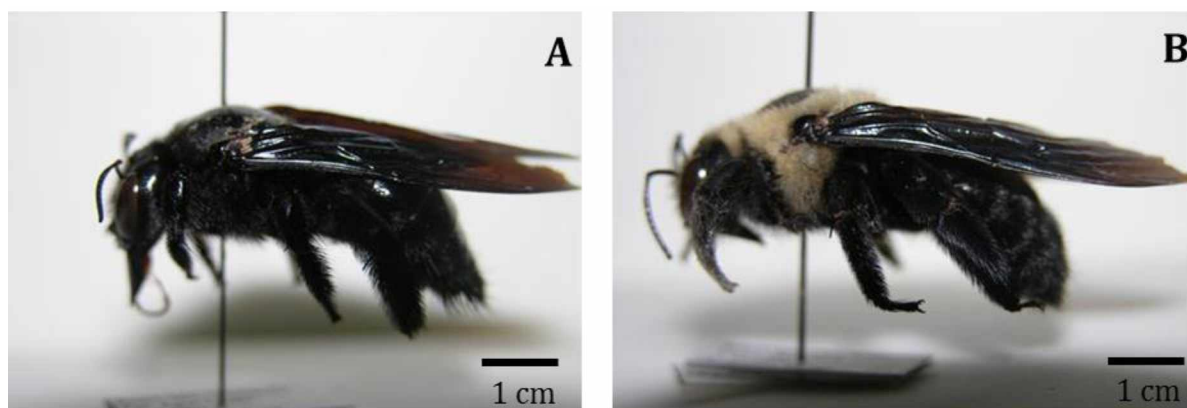


Figura 4. Visão lateral de *Xylocopa frontalis* (A) e de *Xylocopa grisescens* (B).

Outras abelhas de grande porte também podem realizar a polinização do maracujá-amarelo, mas as mamangavas são as mais frequentes e efetivas neste processo. No entanto, algumas espécies podem prejudicar a polinização, como a abelha Europa (*Apis mellifera*) e a Irapuá (*Trigona spinipes*) (Figura 5). Nestes casos, a transferência de grãos de pólen não ocorre de maneira efetiva devido ao pequeno porte dessas abelhas quando comparadas às mamangavas, pois o dorso dos indivíduos não encosta no estigma. Dessa forma, essas espécies não realizam a polinização cruzada, e apenas ‘roubam’ pólen e néctar e são consideradas pilhadoras.

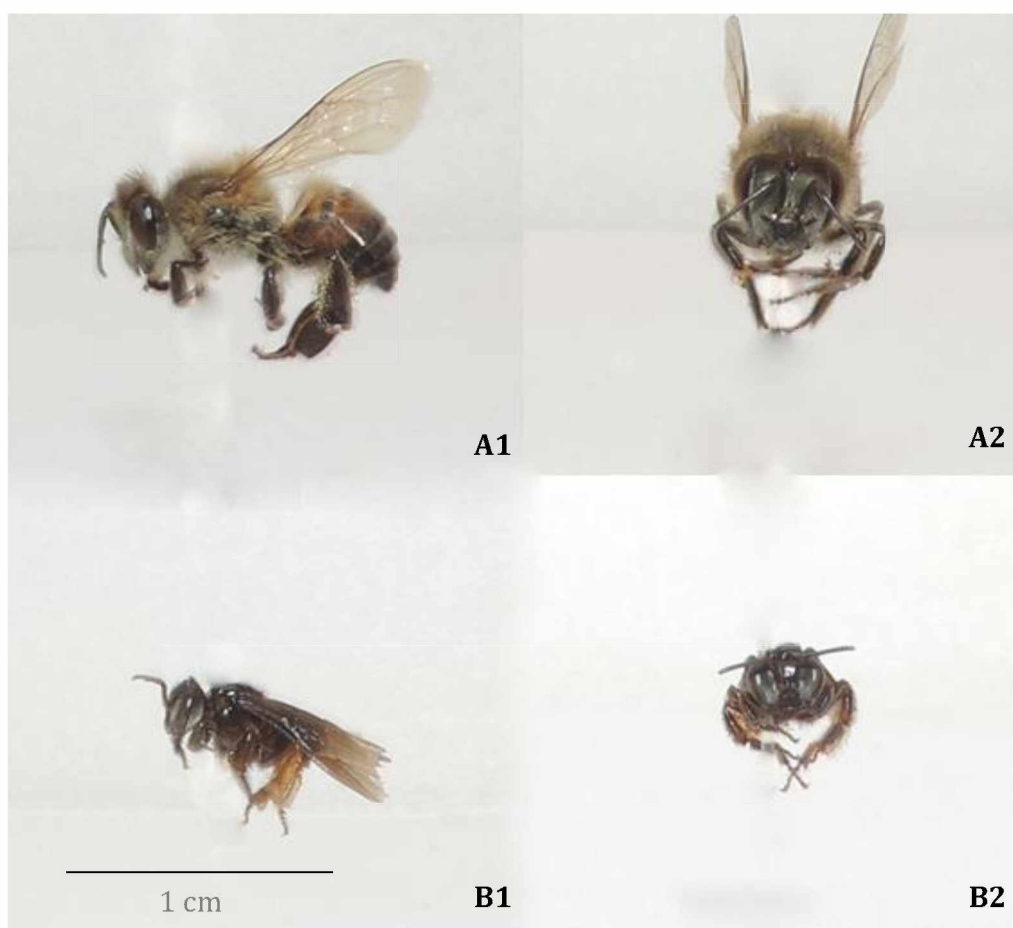


Figura 5. Visão lateral e frontal da abelha Europa (*Apis mellifera*) (A1 e A2) e a Irapuá (*Trigona spinipes*) (B1 e B2).

Abelha Europa e os Problemas na Polinização do Maracujá-Amarelo

A abelha Europa ou abelha melífera (*Apis mellifera*) é abundante nos pomares do maracujá-amarelo, especialmente no início e no final da floração, quando coletam todo o pólen mesmo antes da flor se abrir completamente sendo bastante prejudicial ao cultivo (Figura 6a). Tal abelha pode ser considerada praga do cultivo porque reduz a disponibilidade de pólen, dificultando a polinização pelas mamangavas. A grande quantidade de abelha Europa no início da floração do maracujá-amarelo (setembro-outubro) está relacionada com a baixa disponibilidade de recursos alimentares em áreas de vegetação natural para essas abelhas nessa época do ano, de forma que as áreas de cultivo de maracujá-amarelo se tornam bastante atrativas especialmente como fontes de pólen.

No restante do período de floração do maracujá-amarelo, a abelha Europa é avistada em menor número e não afeta a polinização do cultivo, pois concentra a coleta de recursos em néctar e não no pólen (Figura 6b). Além disso, sua presença nas flores não altera o comportamento da mamangava.



Figura 6. Abelha Europa coletando néctar **(A)** e pólen **(B)** em flores de maracujá-amarelo.

Recomendações para reduzir o prejuízo causado pela abelha Europa

- ✓ Antes de investir em um cultivo de maracujá-amarelo, verifique se os vizinhos são apicultores, se mantém abelhas europa em sua propriedade ou se tem planos para tal atividade.
- ✓ Evitar a aplicação de agrotóxicos e inseticidas para o controle de abelhas Europa. Ao invés disso, cultive plantas atrativas para a essa abelhas no entorno do cultivo de maracujá-amarelo, como por exemplo, a calabura (*Muntingia calabura*) e o cosmos (*Cosmos sulphureus*), que são espécies que possuem flores que oferecem pólen e néctar com mais fácil acesso para essas abelhas afastando-as do maracujá.

Aspectos biológicos das abelhas polinizadoras do maracujá-amarelo: *Xylocopa frontalis* e *Xylocopa grisescens*

Xylocopa frontalis e *Xylcopa grisescens*, assim como outras espécies de mamangavas, possuem o hábito de construir seus ninhos solitariamente, escavando em madeira morta e de textura macia, ou em cavidades pré-existentes como gomos de bambu. Os ninhos podem ser lineares ou em galerias, de acordo com o material utilizado para a construção. Ao fazer seus ninhos em troncos, a fêmea constrói um sistema com uma até três galerias e cada galeria pode conter de uma a seis células de cria. Já os ninhos construídos em gomos de bambus são lineares e apresentam apenas uma galeria que pode conter de uma a quatro células cria. Cada célula representa o espaço onde a cria vai se desenvolver até a fase de adulto. (Figura 7).

Após a construção de cada célula, a fêmea deposita uma massa de pólen e néctar sobre a qual coloca o ovo. Na sequência, a larva começa a ingerir o alimento que está ao seu redor até atingir a fase de adulto, passando antes por um estágio denominado pupa. As coletas de pólen e néctar para a construção da massa de alimento para as larvas

ocorrem durante o dia todo, com horários preferenciais para cada espécie de mamangava.

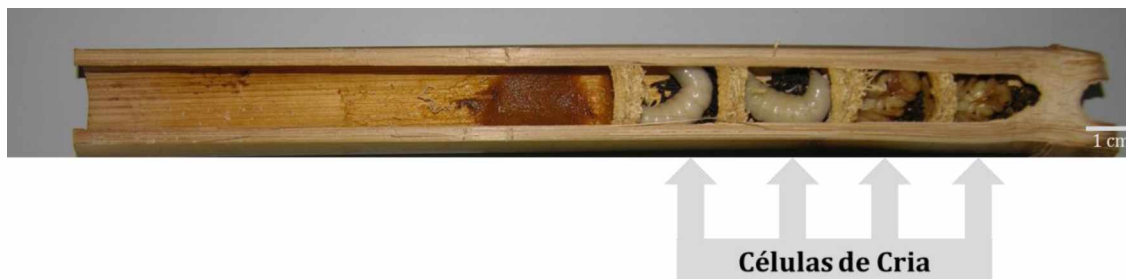


Figura 7. Ninho aberto de mamangava em gomo de bambu com indicação das células de cria com imaturos (larvas e pupas).

Após produzir um número variável de células (de 2 a 4 células), a mãe geralmente permanece no ninho até a emergência de seus filhos. Depois da emergência, as filhas podem permanecer e reusá-lo ao invés de construir o seu solitariamente. Nestes casos, se a mãe está presente, temos a ocorrência de associações entre mãe e filhas. Caso contrário, uma ou mais fêmeas irmãs podem reusar juntas o ninho materno. Estas associações matrifiliais ou entre irmãs, geralmente apresentam 2 ou 3 fêmeas, com a ocorrência uma divisão de trabalho no ninho. Estas espécies que têm fundação solitária, mas podem apresentar ninhos sociais, são classificadas como facultativamente social. Elas apresentam um modo de vida diferentes das espécies cujas fêmeas vivem obrigatoriamente em grupo e formam grandes colônias, com rainhas e operárias como, por exemplo, as abelhas africanizadas e aquelas conhecidas como ‘abelhas sem ferrão’ (Irapuá, Jataí, dentre outras).

As mamangavas são consideradas espécies multivoltinas, ou seja, elas podem ter de quatro a cinco gerações por ano, o que significa que constroem e cuidam de seus ninhos durante todo o ano, com maior frequência nos meses de dezembro a março e nos

meses de julho a setembro na região do Triângulo Mineiro – Minas Gerais. Os ninhos fundados por uma única fêmea podem ser reutilizados por mais de uma geração, o que faz com que o ninho permaneça ativo por vários meses.

Os machos de espécies do gênero *Xylocopa* também permanecem no ninho após a emergência sendo alimentados pela mãe ou por irmãs. No entanto, são facilmente diferenciados das fêmeas por possuírem coloração amarela (Figura 8). Os machos são menos avistados em áreas de cultivo de maracujá-amarelo, no entanto, apresentam porte equivalente ao das fêmeas e também promovem de maneira efetiva a transferência de grãos de pólen entre diferentes flores.



Figura 8. Macho de mamangava **(A)** e fêmea de mamangava **(B)** polinizando efetivamente flores de maracujá-amarelo.

Como criar mamangavas em áreas de cultivo do maracujá-amarelo

Para a criação destas abelhas em áreas de cultivo, primeiramente é necessária a construção de abrigo de abelha, para manutenção dos ninhos e proteção contra vento e insolação direta. Estes abrigos podem ser confeccionados com caibros de madeira e lona amarela com 1,8 m de altura e 1 m de largura e a utilização de tijolos do tipo ‘baiano’ para suporte dos chamados ninhos-armadilha (Figura 9).



Figura 9. Estrutura do abrigo de abelha, confeccionado para manutenção e proteção dos ninhos de mamangavas em áreas de cultivo de maracujá-amarelo **(A)**: Parte superior do abrigo de abelhas confeccionada com estrutura metálica; **(B)**: Suporte confeccionado com madeira e **(C)**: Abrigo de abelhas com cobertura plástica e tijolos para suporte dos ninhos-armadilha.

Os ninhos-armadilha utilizados com sucesso nos experimentos realizados em áreas de cultivo de maracujá na Região do Triângulo Mineiro foram os do tipo gomo de bambu. Estes substratos tiveram uma boa aceitação pelas abelhas e são de fácil obtenção e de baixo custo. Os ninhos-armadilha do tipo gomos de bambu são confeccionados a partir de varas de bambu cortadas em gomos de 25 centímetros com uma das extremidades fechadas pelo próprio nó. Os gomos de bambu devem ser secos e com diâmetro variando de 1,40 centímetros a 2,40 centímetros.

Outro tipo de substrato de nidificação que pode ser utilizado nos abrigos de abelhas são pedaços troncos de madeira macia de plantas como a Tulipa Africana (*Spathodea campanulata*), Eucalipto não tratado (*Eucalyptus* sp.) e Figueira (*Ficus* sp.) que podem ser escavados pelas mamangavas para a construção de ninhos. Os troncos de madeira apresentam maior durabilidade, pois podem abrigar mais de um ninho de mamangava, no entanto apresentam dificuldade para quantificar o número de ninhos ativos e o número de células de cria em cada ninho (Figura 10).

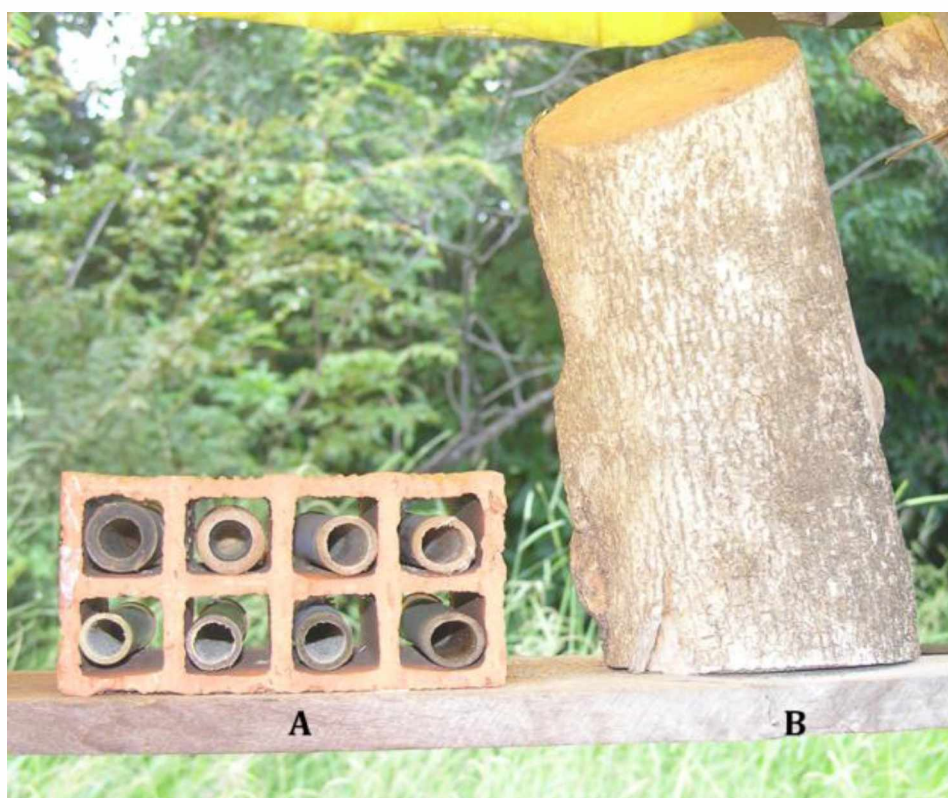


Figura 10. (A): Ninhos-armadilha confeccionados com gomos de bambu fechados na extremidade pelo próprio nó e dispostos em tijolo do tipo 'baiano' **(B):** Tronco de madeira de Tulipa Africana (*Spathodea campanulata*).

O tipo de ninho-armadilha mais recomendado para o manejo de mamangavas é o gomo de bambu devido à facilidade de obtenção desse tipo de ninho e por facilitar a

transferência de ninhos entre diferentes áreas. No entanto, os produtores devem estar atentos para alguns procedimentos importantes:

- ✓ Realizar reposições periódicas de ninhos-armadilha com indícios de desgaste da parede interna
- ✓ Realizar reposição de ninhos não utilizados, pelo menos uma vez por ano.
- ✓ Descartar ninhos-armadilha ocupados por formigas e marimbondos

A montagem de abrigo de abelhas e a disponibilização de ninhos-armadilha são estratégias importantes para atrair mamangavas para as áreas de cultivo de maracujá-amarelo. A baixa densidade dessas abelhas na área de cultivo de maracujá-amarelo está relacionada com a baixa porcentagem de vegetação natural no entorno dos cultivos, tal situação reduz a disponibilidade de locais naturais para a construção de ninhos por mamangavas e atrai esses polinizadores para os ninhos-armadilha. A ocupação espontânea de mamangavas em ninhos-armadilha pode acontecer entre 30 e 45 dias após a disponibilização deles no abrigo de abelha. Caso essa ocupação não ocorra de maneira significativa, existe a possibilidade da transferência de ninhos entre diferentes áreas.

A transferência de ninhos de mamangavas consiste na retirada de um ninho de uma área de criação e a introdução em uma área de cultivo. A transferência entre as áreas de criação de mamangavas e de cultivo pode ser realizada entre áreas com distâncias variáveis. Experimentos realizados entre áreas distantes em até 60 km apresentaram resultados satisfatórios na permanência das fêmeas no ninho.

Após a transferência dos ninhos, as fêmeas podem permanecer ou abandonar os ninhos. A taxa de permanência de fêmeas nos ninhos é de 50%, então, por exemplo, para

cada 10 ninhos transferidos, pelo menos 5 fêmeas poderão permanecer nos seus respectivos ninhos.

Estudos realizados no Triângulo Mineiro demonstraram que transferência de ninhos com células de cria (ninhos nos quais as fêmeas já construíram uma massa de pólen e néctar e colocaram um ovo) apresentam uma porcentagem de permanência de fêmea superior, cerca de 80%.

As principais recomendações para a transferência de ninhos são:

- ✓ No dia anterior à transferência, fechar os ninhos com tela aramada galvanizada no final da tarde;
- ✓ Não fechar com fita adesiva, pois as mamangavas têm mandíbulas muito fortes e rompem com facilidade papel e plástico;
- ✓ Transportar os ninhos com cuidado e evitar movimentos bruscos;
- ✓ Introduzir o ninho no abrigo e no dia seguinte, retirar a tela o mais cedo possível.

Além da montagem de abrigos de abelha próximo às áreas de cultivo, o produtor também pode montar abrigos próximos aos remanescentes de vegetação natural, como forma de atrair um número maior de ninhos. Os ninhos de mamangavas fundados próximos às áreas de vegetação natural podem ser transferidos para abrigos próximos às áreas de cultivo, como forma de aumentar a população de mamangavas nesses locais.

A presença de ninhos já estabelecidos nos abrigos pode tornar mais rápida a colonização e acelerar a ocupação os gomos de bambus nesses locais. Por exemplo, um estudo realizado em três áreas de cultivos na região, mostrou um aumento de 43 % a

100% no número de ninhos nos abrigos, seis meses após a introdução de ninhos já estabelecidos (Figura 11).

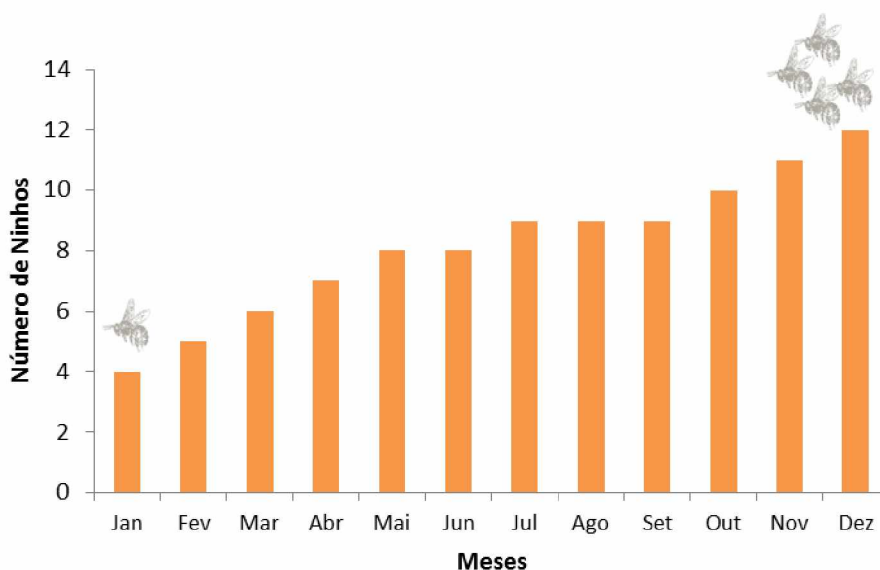


Figura 11. Modelo de crescimento de ninhos de mamangava ao longo do ano.

O produtor pode acompanhar o crescimento e o desenvolvimento dos ninhos nos abrigos inspecionando periodicamente cada ninho-armadilha quanto à presença de mamangavas e células de cria. Com o auxílio de uma lanterna de mão é possível verificar quais ninhos estão ocupados por mamangavas e para verificar se o ninho-armadilha do tipo gomos de bambu possui célula de cria, o produtor pode medir indiretamente utilizando palitos de madeira com comprimento de 25 a 30 cm.

O procedimento para verificar a presença de células de cria deve ser realizado com bastante cuidado para não danificar possíveis células de crias. O produtor deve retirar o ninho do suporte, sem realizar movimentos bruscos, marcar com uma caneta o lado do bambu voltado para cima, e inserir um palito de madeira com cuidado até o fim do ninho-armadilha. Caso o ninho possua células de cria, o palito não atingirá o fundo do ninho o que indica a presença de células de cria. Caso o palito atinja o fundo do ninho, o

comprimento do palito será igual ao comprimento do ninho-armadilha, o que indica que não há células de crias no ninho (Figura 12).

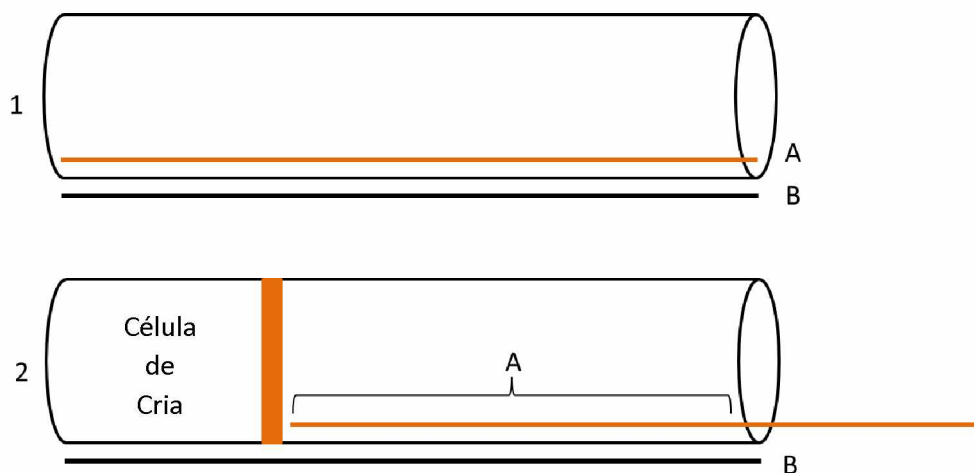


Figura 12. Método utilizado para verificar a presença de células de cria em ninhos de mamangavas construídos em ninhos-armadilha do tipo gomo de bambu. Situação 1: Ninho sem célula de cria – comprimento do palito de madeira **(A)** é igual ao comprimento total do ninho-armadilha **(B)**. Situação 2: Ninho com célula de cria - comprimento do palito de madeira **(A)** é menor do que o comprimento total do ninho-armadilha **(B)**.

Importância da vegetação no entorno dos cultivos para manutenção das populações de mamangavas

O crescimento populacional das mamangavas depende muito das condições da área. Presença de vegetação natural, assim como pomares com diferentes espécies de frutíferas, no entorno das áreas de cultivo de maracujá-amarelo são muito importantes para a manutenção de mamangavas. O maracujá-amarelo oferece apenas néctar como alimento para essas abelhas e é necessário plantas fontes de pólen no entorno dos cultivos.

As mamangavas são bem generalistas, ou seja, coletam pólen de uma grande variedade de espécies de plantas. Duas das principais fontes de pólen são espécies dos gêneros *Solanum* e *Senna*, como por exemplo, as espécies conhecidas popularmente como Lobeira (Figura 13A-B) e Fedegoso (Figura 13C-D), respectivamente. Além de fontes de pólen, a manutenção de vegetação no entorno dos cultivos, pode fornecer fontes de néctar para garantir a disponibilidade desse recurso quando o maracujá-amarelo não está florido. As mamangavas também apresentam hábito generalista quanto à coleta de néctar. Espécies frequentemente utilizadas como fontes de néctar na região do Triângulo Mineiro, pertencem aos gêneros *Fridericia* e *Serjania*, exemplos de espécies conhecidas pertencentes a estes gêneros são a Roxa ou Roxinha (Figura 13 D-E) e o Cipó Uva (Figura 13 F-G), respectivamente.

A manutenção de remanescentes naturais no entorno contribui para a qualidade ambiental dessas áreas e com a manutenção da população de mamangavas e de outros polinizadores nas áreas de cultivo. Quanto maior a diversidade de abelhas polinizadoras nos cultivos, maior será o benefício para o produtor.

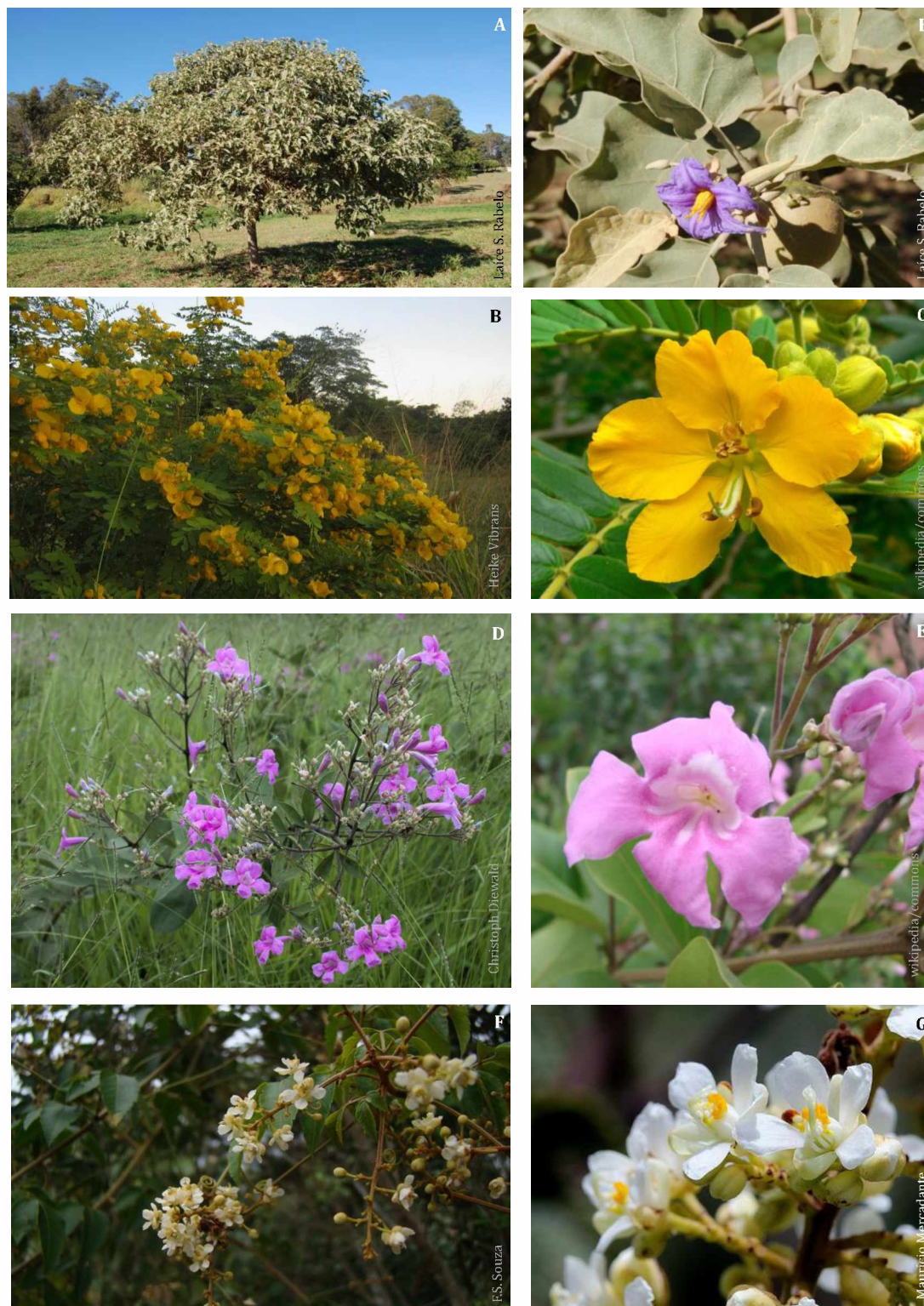


Figura 13. Lobeira (*Solanum* sp.) **(A)** e flor de Lobeira **(B)**; Fedegoso (*Senna* sp.) **(C)** e flor de fedesogo **(D)**; Roxinha (*Fridericia* sp.) **(E)** e flor de Roxinha **(F)** e Cipó Uva (*Serjania* sp.) **(G)** e flor de Cipó Uva **(H)**.

Quantos ninhos mamangavas são necessários em uma área de cultivo para uma boa produção de frutos?

A principal pergunta dos produtores de maracujá-amarelo, que tem conhecimento da importância das mamangavas para polinização é quantas mamangavas são necessárias para uma produção adequadas de frutos. Para responder essa questão é necessário, primeiramente conhecer a porcentagem de polinização natural e o tamanho da área de cultivo.

Para avaliar a porcentagem de polinização natural, o produtor deve marcar as flores com fitilho colorido ao longo de diferentes ruas do cultivo e após 15 dias verificar quais dessas flores formaram frutos. Para facilitar a localização dos frutos recomenda-se a marcação com fitilhos vermelhos e azuis (Figura 14).



Figura 14. Flores de maracujá-amarelo marcadas com fitilhos coloridos **(A)** e fruto formado a partir de flor marcada e polinizada naturalmente **(B)**.

A porcentagem de polinização natural pode ser quantificada marcando 100 flores com fitilho colorido ao longo de diferentes ruas do cultivo e verificando a formação de frutos nessas mesmas flores. Vale ressaltar que a avaliação de porcentagem de

polinização natural é feita por dia, pois a flor do maracujá-amarelo dura apenas um dia. Dessa forma, caso o produtor queria avaliar a porcentagem de polinização natural em diferentes dias é necessário utilizar fitilhos de cores diferentes para cada dia. A figura a seguir apresenta um exemplo no qual 100 flores foram marcadas em um dia e após 15 dias verificou-se a formação de 7 frutos, o que resultou em uma porcentagem de polinização natural de 7% (Figura 15).

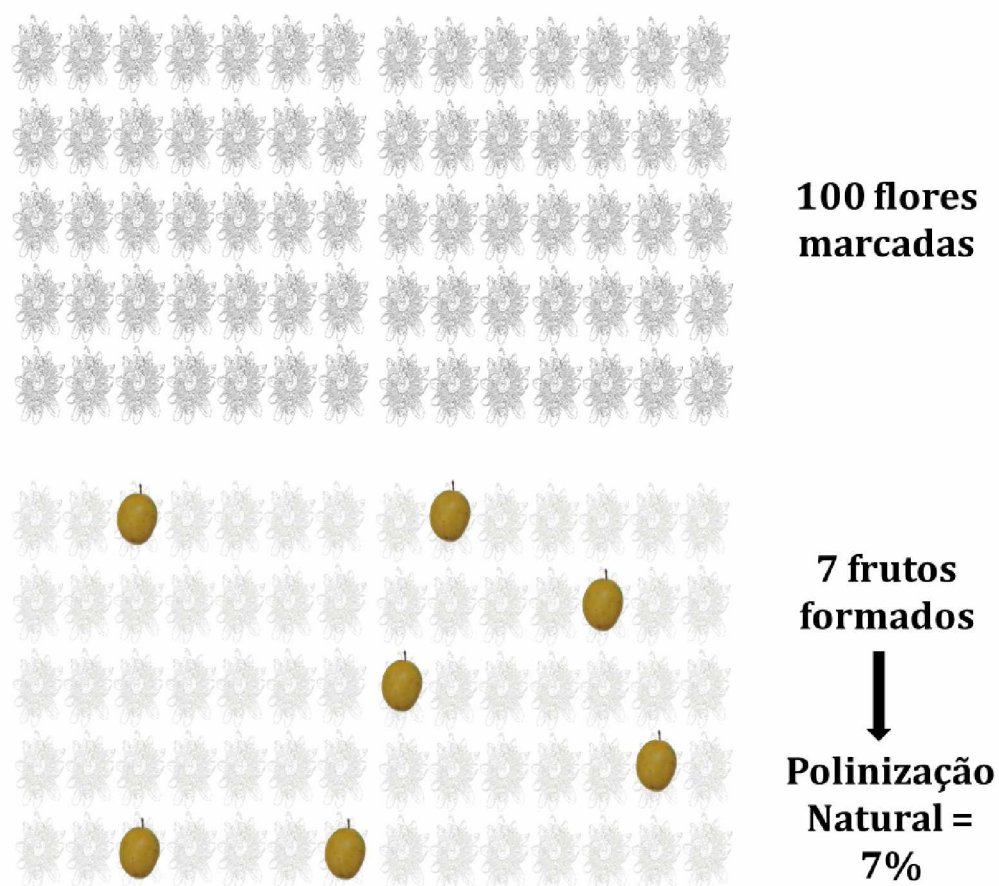


Figura 15. Método para avaliação de porcentagem de polinização natural.

Na região do Triângulo Mineiro a porcentagem de polinização natural varia de 3% a 49%, sendo que a porcentagem média gira em torno de 13%. Experimento de manejo de ninhos de mamangavas para áreas de cultivo de maracujá amarelo com o

intuito de incrementar a quantidade dessas abelhas e a qualidade e a produção do cultivo, demonstraram que para incrementar em 50% a produção é necessário a introdução de 4 ninhos de mamangava por hectare em áreas com porcentagem de polinização natural maior do que 13% e 8 ninhos de mamangava por hectare em áreas com porcentagem de polinização natural menor do que 13%.

Caso o produtor não tenha a quantidade de ninhos indicada, de acordo com porcentagem de polinização natural, a introdução de uma quantidade menor de ninhos também pode ser realizada e, mesmo que não alcance um aumento de 50%, a presença desses polinizadores será benéfica para a quantidade e qualidade dos frutos formados.

Além de contribuir com a produção do maracujá-amarelo, o manejo de ninhos de mamangava para áreas de cultivo também contribui para a redução da quantidade de pilhadores, as abelhas que coletam pólen e néctar das flores de maracujá e não polinizam devido ao pequeno porte (abelha Europa e Irapuá). Experimentos demonstraram que um aumento na quantidade de mamangava foi acompanhado de uma redução na quantidade de pilhadores, tal fato está associado com a quantidade de néctar que é ingerido pelas mamangavas. Como as mamangavas são abelhas de grande porte, elas ingerem uma grande quantidade de néctar, diminuindo esse recurso nas flores do maracujá-amarelo e tornando elas menos atrativas para os pilhadores.

E se o produtor não conseguir ninhos de mamangava?

Caso o produtor não tenha uma quantidade de ninhos suficiente, a polinização manual deve ser realizada para garantir a produção adequada do cultivo. Para fazer a polinização manual cruzada é preciso tocar as anteras de uma flor (Flor 1) com os dedos até que fiquem impregnados de pólen (Figura 16a) e tocar nos três estigmas de outra flor de outra planta (Flor 2) (Figura 16b). Em seguida, tocar nas anteras desta mesma flor (Flor 2) para retirar o pólen e levá-lo para o estigma da próxima flor (Flor 3) (Figura 16c) e repetir o procedimento ao longo das linhas de cultivo.

É importante primeiro depositar o pólen no estigma e depois recolher o pólen para a próxima flor. Caso contrário, ocorre autopolinização, ou seja, a movimentação do pólen na mesma flor ou na mesma planta e não há formação do fruto. Para facilitar a polinização manual, deve-se plantar numa mesma fileira pelo menos quatro cultivares diferentes para diversificar o pólen, driblando a autoincompatibilidade do maracujá-amarelo. Por isso é importante conhecer a procedência das mudas para garantir a variabilidade genética, ou seja, que as mudas sejam provenientes de diferentes plantas e apresentem cargas genéticas diferentes.

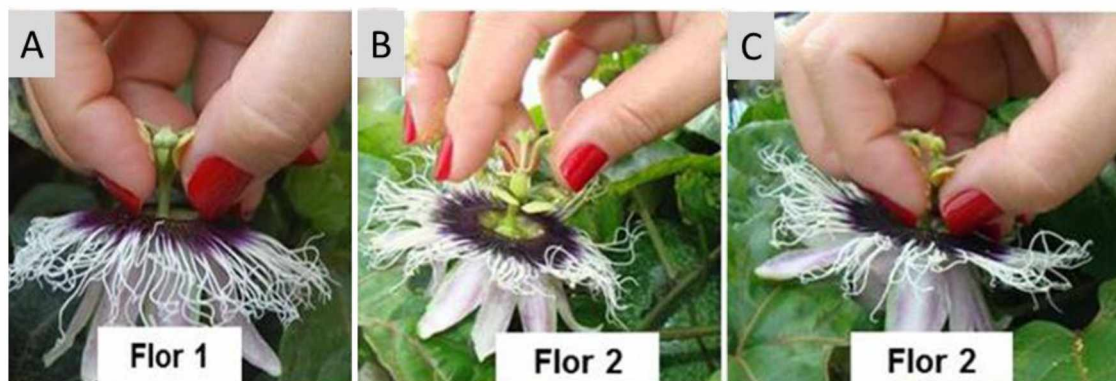


Figura 16. Etapa para fazer a polinização cruzada **(A)** coletar o pólen das anteras de uma flor, **(B)** em outra flor, tocar nos estigmas para transferir o pólen e nesta mesma flor **(C)** tocar nas anteras para coletar o pólen para a próxima flor.

A polinização manual pode ser prejudicada no início da florada do maracujá-amarelo devido à alta abundância de abelha Europa coletando pólen nesse período. Para garantir quantidade suficiente de pólen para realizar a polinização manual pode coletar botões florais que vão abrir no dia (Figura 17) antes da abertura (em torno das 11h) e armazená-los em recipiente fechado, (balde ou isopor) em local fresco. Ao iniciar a polinização manual ainda é possível encontrar algum pólen nas flores recém-abertas e quando não houver mais pólen disponível, os botões coletados anteriormente estarão abertos e com pólen suficiente para realizar a polinização manual. Para que a polinização manual seja eficiente é necessário coletar botões de plantas diferentes para evitar a autopolinização.

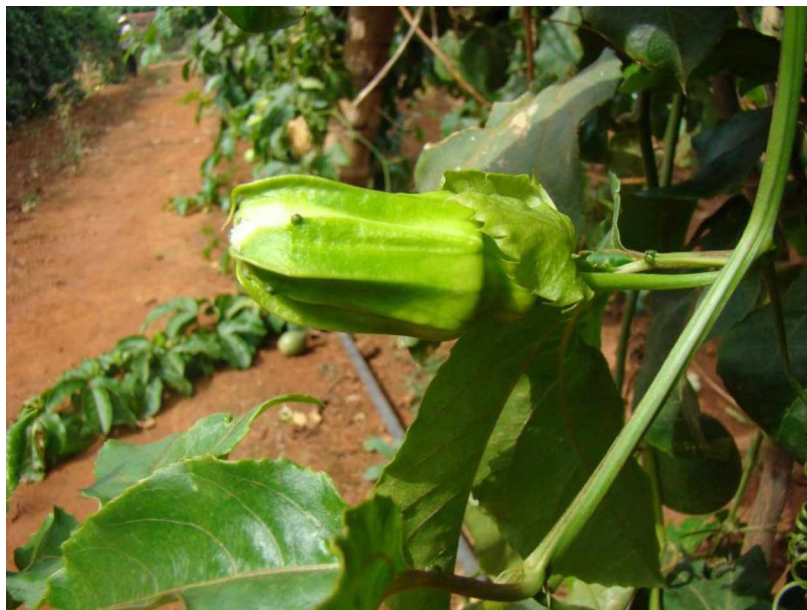


Figura 17. Botão floral de maracujá-amarelo antes da abertura da flor.

Conservação de polinizadores

As abelhas atuam como os principais agentes polinizadores de plantas nativas e cultivadas e a conservação dessas espécies é fundamental para a manutenção da biodiversidade vegetal e para a produção de alimentos. Além do maracujá-amarelo, as abelhas também polinizam várias outras espécies como berinjela, tomate, morango, abóbora, girassol, acerola e goiaba. Estima-se que mais de um terço de todos os cultivos agrícolas mundiais tenham sua produção beneficiada por meio da polinização por abelhas.

Para contribuir com a conservação de polinizadores é necessário reduzir o desmatamento e a destruição das áreas vegetação natural, pois as áreas naturais abrigam espécies vegetais que são fontes de pólen e néctar, além de abrigar também locais adequados para a construção de ninhos desses polinizadores.

Outra ação importante por parte dos produtores agrícolas é a utilização racional de agrotóxicos. O uso exagerado de agrotóxicos tem efeitos nocivos ao meio ambiente e aos polinizadores. O uso de inseticidas em cultivos em fase de floração contaminam o pólen e néctar e podem modificar o comportamento desses insetos evitando a visita nas flores do cultivo e prejudicando a transferência adequada de grãos de pólen e, ainda, podem causar a morte de adultos e imaturos reduzindo o tamanho das suas populações.

Além dos inseticidas, o uso de herbicidas também pode afetar negativamente os polinizadores devido à toxicidade dos compostos químicos presentes e por atuarem na remoção de plantas consideradas daninhas para o produtor, mas que são fontes de alimento para os polinizadores.

A utilização racional de agrotóxicos contribui tanto para a conservação do meio ambiente quanto para a conservação de polinizadores inclui o uso em quantidades recomendadas por profissionais habilitados, boas práticas de aplicação e conservação e descarte correto de embalagens. Vale ressaltar que dependendo do tipo de cultivo a adoção de práticas agrícolas como o manejo integrado de pragas e a agricultura orgânica consiste em alternativa ao uso de agrotóxicos.

No caso do maracujá-amarelo, que é uma planta bastante suscetível a pragas e doenças recomenda o uso racional de agrotóxicos e, para não prejudicar as mamangavas, recomenda a aplicação no início da manhã ou no final da tarde (período que não coincide com a abertura das flores e atividades das mamangavas). Vale lembrar que o produtor não deve utilizar agrotóxicos nas proximidades dos abrigos de abelha como forma de evitar a contaminação de mamangavas adultas e de imaturos.

A conservação de polinizadores e o uso sustentável dessas espécies em áreas de cultivo agrícola dependem de iniciativas como a manutenção de vegetação natural em áreas de reserva legal e áreas de proteção permanente, práticas de rotação de cultura, a

recuperação de áreas degradadas através do plantio de mudas para enriquecimento da flora e o uso racional de agrotóxicos. Tais ações são fundamentais para a conservação dos polinizadores e, conseqüentemente, da manutenção da produção de alimentos e da biodiversidade de espécies vegetais e os produtores rurais tem um papel crucial nessa iniciativa.

Glossário

Abriço de abelhas: estrutura que protege os ninhos-armadilhas do sol, chuva, controla a temperatura.

Agricultura orgânica: prática agrícola sem o uso de agrotóxicos.

Antera: compõe a parte masculina da flor que contém os grãos de pólen.

Apicultores: criadores comerciais de abelhas Europa (*Apis mellifera*).

Áreas de proteção permanente: área protegida, coberta ou não por vegetação nativa, com a função ambiental de preservar os recursos hídricos, a paisagem, a estabilidade geológica e a biodiversidade, facilitar o fluxo gênico de fauna e flora, proteger o solo e assegurar o bem-estar das populações humanas.

Áreas de reserva legal: área localizada no interior de uma propriedade rural com a função de assegurar o uso econômico de modo sustentável dos recursos naturais do imóvel rural, auxiliar a conservação e a reabilitação dos processos ecológicos e promover a conservação da biodiversidade, bem como o abrigo e a proteção de fauna silvestre e da flora nativa.

Associações matrifiliais: Associação entre mães e filhas.

Autoincompatibilidade (Autoincompatíveis): incapacidade de uma planta fértil formar sementes quando fertilizada por seu próprio pólen.

Autopolinização: transferência do pólen da antera para o estigma de um mesmo indivíduo.

Biodiversidade: o número de espécies e variedade dos organismos no ambiente natural.

Célula de cria: Para mamangavas é o local do ninho, delimitado por opérculos construídos com serragem da parede interna dos ninhos, onde é colocada a massa de aprovisionamento (pólen e néctar) e o ovo.

Disco nectarífero: local na flor do maracujá amarelo onde é produzido e armazenado o néctar.

Espécies multivoltinas: espécies que podem produzir de quatro a cinco gerações por ano.

Estigma: compõe a parte feminina da flor, local que recebe os grãos-de-pólen na polinização.

Flora: conjunto de plantas.

Hábito generalista: quando abelhas coletam recursos alimentares de diversas espécies vegetais.

Hermafrodita: quando na mesma flor ocorre a presença de estruturas femininas e masculinas.

Manejo integrado de pragas: consiste em conjunto de medidas voltadas para diminuir o uso de agrotóxicos na produção convencional, buscando promover o equilíbrio nas plantas e monitorar as pragas evitando, ao máximo, o uso desses produtos no sistema agrícola.

Néctar: solução adocicada com carboidratos, aminoácidos e lipídios. Utilizado como recurso alimentar por muitos visitantes florais.

Nidificação: construção de ninhos em local adequado.

Ninho-armadilha: ninhos artificiais confeccionados pelo homem e colocados na natureza à disposição das abelhas, como por exemplo, o gomo de bambu.

Pilhadores: abelhas que coletam pólen e néctar, mas não contribuem para a transferência de grãos de pólen entre flores diferentes. No caso do maracujá-amarelo, os principais pilhadores são a abelha Europa e a Irapuá.

Pólen: estrutura que transporta o gameta masculino. Germina originando um tubo polínico que transporta o gameta masculino até o óvulo (gameta feminino).

Polinização: processo de transferência do grão-de-pólen da antera (órgão masculino) ao estigma (órgão feminino) da flor que resulta na fertilização do óvulo e consequente desenvolvimento do fruto e da semente.

Polinização cruzada: processo de polinização entre flores de plantas diferentes da mesma espécie.

Polinização natural: quando o processo de polinização ocorre por ação das abelhas.

Polinização manual: processo artificial de polinização com o uso das mãos.

Polinizadores efetivos: abelhas que são eficientes na transferência de grãos de pólen entre flores diferentes por apresentarem tamanho e comportamento de forrageio adequados.

Rotação de cultura: consiste em alternar, periodicamente, espécies vegetais, numa mesma área agrícola.

Recursos alimentares: para as abelhas inclui a coleta de néctar e pólen.

Variabilidade Genética: habilidade das populações de se adaptarem em resposta às mudanças ambientais.