

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

**POLINIZAÇÃO ENTOMÓFILA EM POMARES COMERCIAIS DE MAÇÃ NA REGIÃO SUL  
DO BRASIL**

**Jenifer Dias Ramos**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL**

**Av. Ipiranga 6681 - Caixa Postal 1429**

**Fone: (051) 3320-3500**

**CEP 90619-900 Porto Alegre - RS**

**Brasil**

**2016**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**POLINIZAÇÃO ENTOMÓFILA EM POMARES COMERCIAIS DE MAÇÃ NA REGIÃO SUL  
DO BRASIL**

**Jenifer Dias Ramos**

**Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Betina Blochtein**

**Coorientadora: Dr<sup>a</sup> Patrícia Nunes-Silva**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre – RS – Brasil

2016

## **Banca Examinadora**

---

Dra. Blandina Felipe Viana (UFBA)

---

Dr. Breno Magalhães Freitas (UFC)

---

Dra. Kátia Sampaio Malagodi-Braga (EMBRAPA - Jundiaí/SP)

## Sumário

Agradecimento .....	v
Dedicatória .....	vii
Resumo .....	viii
Abstract.....	ix
1. Apresentação.....	10
2. CAPÍTULO 1.....	16
Introdução .....	18
Material e Métodos.....	19
Resultados e Discussão .....	23
Conclusões.....	29
Agradecimentos .....	30
Referências Bibliográficas .....	30
3. CAPÍTULO 2.....	37
INTRODUÇÃO .....	38
MATERIAS E MÉTODOS .....	40
RESULTADOS .....	44
CONCLUSÃO .....	51
AGRADECIMENTOS.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	52
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
5. APÊNDICE .....	60
Normas da Revista “Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)” .....	60
Normas de submissão da Revista “SCIENTIA HORTICULTURAE” .....	70

## **Agradecimentos**

*Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Janine e Francisco, que sempre apoiaram minhas escolhas e me proporcionaram todas as oportunidades de estudar e crescer ao longo dessa caminhada. Que me deram todo carinho e amor necessários nos momentos alegres e me acolheram nos momentos difíceis e cansativos. Obrigada pelo apoio, pelo amor e pelo exemplo de força e coragem que são pra mim.*

*Ao meu irmão, Francisco, por seu apoio e amor incondicionais.*

*À minha família, pelo amor e carinho em todos os momentos, e pela atenção em tentar entender meu projeto de pesquisa. Agradeço especialmente à minha avó Marlene, por ser meu porto seguro e me acolher nos momentos de choro e cansaço, por me dar o “colo” que acalmava meu coração e me dava forças para voltar e continuar tentando, e por me dar o amor mais nobre e incondicional que eu conheço.*

*À minha orientadora, Dra. Betina Blochtein, por aceitar a orientação desse trabalho e por estes anos juntas desde o meu segundo semestre da graduação. Obrigada pela paciência, pelo carinho e estímulo, e pela amizade e respeito construídos ao longo destes anos.*

*À minha co-orientadora, Dra. Patrícia Nunes-Silva, por aceitar co-orientar este trabalho. Obrigada pela paciência, pelas dicas, pela seriedade e diversão durante os campos, pelo carinho e apoio durante esses dois anos juntas e obrigada pela amiga especial que se tornou nesse tempo.*

*À pesquisadora Dra. Sídia Witter por todo apoio, carinho, auxílio nos campos e todas as conversas e discussões profissionais e pessoais. Obrigada pela amizade.*

*Aos colegas e amigos do Laboratório de Entomologia, por compartilhar informações e conhecimentos. Obrigada, pelo apoio e pelos momentos de descontração entre um café e outro. Obrigada especialmente à colega Rosana Halinski, por me apoiar e me iniciar nesse “mundo” da pesquisa e das abelhas, e por todas as trocas que nos permitiram crescer juntas.*

*À minha segunda família, do Ciências sem Fronteiras, que construí durante um intercâmbio na graduação e que acompanharam e acompanham minha caminhada. Obrigada pelo apoio incondicional, pelo amor e carinho mesmo com os milhares quilômetros de distância. Obrigada por todas as vezes que me ouviram e me deram forças para continuar, que confiaram e acreditaram em mim.*

*Aos meus amigos do colégio que me acompanham e me agüentam por mais de dez anos. Obrigada pelo apoio e carinho em todos os momentos ao longo dessa trajetória. Obrigada especialmente a Jessica Costa que sempre me apoiou e ajudou com a arte gráfica deste trabalho.*

*Aos meus amigos da dança que fizeram deste ano especial. Obrigada pelo apoio e momentos de descontração. Obrigada especialmente a Tais, Naiana e Gabrielle.*

*Aos meus colegas e amigos da UFRGS que incentivaram e apoiaram minhas escolhas, especialmente a Gabriela, Gustavo, Cristiano, Liciane e Júlia. Obrigada por compreenderem minhas ausências, pelo apoio e carinho em todos os momentos.*

*A todos meus amigos que estiveram presentes direta ou indiretamente nestes dois anos. Obrigada pelo apoio e carinho.*

*Aos meus colegas, funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação em Zoologia da PUCRS pela atenção dispensada dentro e fora da sala de aula. Obrigada pela possibilidade de trocar informações e construir conhecimentos.*

*À Embrapa Uva e Vinho e à Equipe do Laboratório de Entomologia, especialmente ao Dr. Marcos Botton e Vânia Sganzerla pelo apoio nos trabalhos de campo e pelo conhecimento compartilhado.*

*À Epagri – São Joaquim especialmente aos pesquisadores: Dr. Cristiano João Arioli e Me. Joatan Machado. Obrigada pelo apoio nos trabalhos de campo, pelas conversas e discussões e por todo conhecimento construído ao longo destes dois anos.*

*À Frutazza por permitir desenvolver o trabalho de campo em seus pomares, especialmente a Cristiane Salette Andreazza, pela disponibilidade e confiança neste trabalho.*

*A CAPES pela bolsa concedida para realização deste trabalho.*

*Dedico essa dissertação a todos aqueles que acreditaram no meu potencial e contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.*

## POLINIZAÇÃO ENTOMÓFILA EM POMARES COMERCIAIS DE MAÇÃ NA REGIÃO SUL DO BRASIL

**Resumo** - A polinização é um importante serviço ecossistêmico responsável pela produção e qualidade de 33% das culturas agrícolas. No âmbito agrícola, as abelhas são os principais agentes polinizadores, sendo *Apis mellifera*, a principal espécie manejada para a polinização de culturas. Dentre estas destaca-se o cultivo da macieira, a qual é uma espécie que apresenta muitas cultivares com alto grau de incompatibilidade, sendo necessária a presença de cultivares chamadas de polinizadoras nos pomares, as quais fornecem pólen para a polinização cruzada. O sistema de plantio de macieira mais comum no Brasil consiste em linhas da cultivar comercial alternadas com linhas da cultivar "polinizadora", sendo comum o uso de colônias de *A. mellifera* para assegurar a polinização cruzada. Esta dissertação divide-se em dois artigos científicos, o primeiro intitulado "Avaliação de sistemas de plantio de macieiras em relação à performance polinizadora de *Apis mellifera*", cujo objetivo foi avaliar a eficiência de dois sistemas de plantio com relação à performance polinizadora de *A. mellifera*. O estudo foi conduzido em um pomar de maçã 'Gala', que apresentava dois sistemas de plantio: (1) convencional, que consiste em três linhas da cultivar comercial ('Gala') e duas linhas da cultivar "polinizadora" ('Fuji'); (2) plantio com 'floríferas', que consiste na plantação de árvores de maçã selvagem a cada seis metros na linha da cultivar comercial. Frutos desses sistemas foram analisados em relação ao peso, número e distribuição de sementes nos carpelos. Seguimos 121 abelhas durante o vôo de forrageamento: 14% delas cruzaram entre as linhas do pomar e 94% coletaram néctar. Houve correlação entre o peso dos frutos e número de sementes e os frutos do sistema com floríferas apresentaram mais sementes ( $6 \pm 2$ ) do que os frutos do sistema convencional ( $5 \pm 2$ ). Estes resultados indicam que o sistema de plantio com floríferas foi relativamente melhor considerando o comportamento de forrageamento de *A. mellifera*. E o segundo artigo intitulado "Atratividade dos recursos florais de macieira para *Apis mellifera*", cujo objetivo foi comparar a oferta de recursos florais entre as cultivares de *Malus domestica* 'Fuji', 'Fuji Suprema', 'Gala' e 'Imperial Gala' e avaliar a taxa de visitação de *A. mellifera*. Em um pomar de coleções, foi avaliado a abundância floral, o volume do néctar e seu teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix) e o número de grãos de pólen por flor para as quatro cultivares. Além disso, em um pomar experimental, foi verificada a taxa de visitação de *A. mellifera* nas flores das cultivares 'Gala' e 'Fuji' e calculado um modelo linear generalizado misto para verificar qual a cultivar mais atrativa. 'Gala' foi mais atrativa para as abelhas, apresentando maior abundância de flores, volume de néctar e quantidade de grãos de pólen por flor. Comparando os recursos florais das cultivares analisadas ('Fuji', 'Fuji Suprema', 'Gala' e 'Imperial Gala'), 'Imperial Gala' pode ser considerada a cultivar mais atrativa.

## INSECTS POLLINATION IN APPLE ORCHARDS IN SOUTHERN BRAZIL

**Abstract** - Pollination is an important ecosystem service responsible for the production and quality of 33% of agricultural crops. In the agricultural context, the bees are the main pollinators, and *Apis mellifera*, the main species managed for pollination of crops. Among these it highlights the cultivation of apple, which is a species that has many varieties with a high degree of incompatibility, requiring the presence of “pollinazier” varieties of calls in the orchards, which provide pollen for cross-pollination. The apple planting system usually in Brazil consists of alternating rows of the commercial cultivar with lines of the “pollinator” cultivar, being common the use of *Apis mellifera* colonies to ensure cross-pollination. This thesis is divided into two papers, the first entitled “Evaluation of apple trees planting systems with respect to the pollination performance of *Apis mellifera*” whose objective was to evaluate the efficiency of two planting systems with respect to the pollination performance of *Apis mellifera*. The study was conducted in an ‘Gala’ apple orchard that presented two planting systems: (1) conventional, consisting of three lines of the commercial cultivar (‘Gala’) and two rows of the “pollinizer” cultivar (‘Fuji’); (2) planting with ‘crab-apples’, which consists in planting wild apple trees every six meters in the line of the commercial cultivar. Fruits from these systems were analysed in relation to weight, seed number and distribution among carpels. We followed 121 bees during foraging flight: 14% of them crossed between the lines of the orchard and 94% collected nectar. There was correlation between fruit weight and number of seeds, and the fruits of the ‘crab-apple’ system had more seeds ( $6 \pm 2$ ) than the fruit of conventional system ( $5 \pm 2$ ). These results indicate that the planting system with ‘crab-apples’ is better considering the foraging behavior of honey bees. The second article entitled “Attractiveness of floral resources of apple to *Apis mellifera*” whose objective was to compare the offer of floral resources between cultivars of *Malus domestica* ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ and ‘Imperial Gala’ and to evaluate the visitation rate of *Apis mellifera*. In a collection orchard it were evaluated the floral abundance, the nectar volume and its soluble solids content (Brix) and the number of pollen grains per flower for the four varieties. Besides this, in an experimental orchard, the visitation rate of *Apis mellifera* in ‘Fuji’ and ‘Gala’ was verified and a linear mixed model calculated to verify which cultivar was the most attractive. ‘Gala’ was the most attractive for the bees, presenting higher abundance of flowers, volume of nectar and amount of pollen grains per flower. Comparing the flower resources of all cultivars, ‘Imperial Gala’ can be considered the most attractive. was to compare the offer of floral resources between cultivars of *Malus domestica* ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ and ‘Imperial Gala’ and to evaluate the visitation rate of *Apis mellifera*. In a collection orchard it were evaluated the floral abundance, the nectar volume and its soluble solids content (Brix) and the number of pollen grains per flower for the four varieties. Besides this, in an experimental orchard, the visitation rate of *Apis mellifera* in ‘Fuji’ and ‘Gala’ was verified and a linear mixed model calculated to verify which cultivar was the most attractive. ‘Gala’ was the most attractive for the bees, presenting higher abundance of flowers, volume of nectar and amount of pollen grains per flower. Comparing the flower resources of all cultivars, ‘Imperial Gala’ can be considered the most attractive.

## 1. Apresentação

A polinização é um importante serviço ecossistêmico envolvido na manutenção das populações de cerca de 90% das angiospermas (Ollerton *et al.*, 2011). Nos agroecossistemas esse serviço é responsável pela produção e qualidade de 33% das culturas agrícolas (Klein *et al.*, 2007). Estima-se que aproximadamente 73% das espécies vegetais cultivadas mundialmente sejam polinizadas por alguma espécie de abelha, 19% por moscas, 6,5% por morcegos, 5% por vespas, 5% por besouros, 4% por aves e 4% por borboletas e mariposas (FAO, 2004).

A importância econômica dos polinizadores foi estimada por Gallai e colaboradores (2009) em aproximadamente 153 bilhões de euros, o que representa 9,5% do valor gerado pela agricultura mundial para a alimentação humana em 2005 (Gallai *et al.*, 2009). Entretanto, o declínio de polinizadores no mundo (Status of Pollinators in North America, 2006) é um limitante da qualidade e da quantidade dos frutos e do número de sementes, podendo se tornar um dos maiores problemas quando se pensa a produção agrícola, no tocante a produção de alimentos (De Marco & Coelho, 2004). Para o Brasil, Giannini e colaboradores (2015) estimaram uma redução em 30% (US\$ 12 bilhões) do faturamento da agricultura caso haja o desaparecimento de insetos polinizadores.

No âmbito agrícola, as abelhas são os principais agentes polinizadores, sendo *Apis mellifera*, a principal espécie manejada para a polinização de culturas (Ricketts *et al.*, 2008). Dentre as culturas em que esta espécie é comumente utilizada para a polinização, destaca-se o cultivo da macieira. Estudos têm evidenciado que o comportamento das abelhas durante a visita floral de macieiras é importante para assegurar a polinização cruzada (Freitas, 1995, Viscens & Bosch, Silva 2009, Salomé, 2014), sendo essencial que as abelhas se desloquem constantemente entre diferentes cultivares do pomar para oportunizar uma melhor deposição

de grãos de pólen sobre o estigma das flores (Salomé, 2014). A macieira (*Malus domestica* Borkh) é uma espécie que apresenta muitas cultivares com alto grau de incompatibilidade (Broothaerts *et al.*, 2004), sendo necessária a presença de cultivares chamadas de polinizadoras nos pomares, as quais fornecem pólen para a polinização cruzada (Kvitschal *et al.*, 2013). O percentual mínimo de polinizadoras no pomar deve ser de 12%, devendo as mesmas estarem plantadas a distância de 10 m a 12 m ou na proporção de uma a cada oito plantas produtoras (Hoffmann *et al.*, 2006). Todavia, apenas as árvores polinizadoras não garantem a polinização, sendo necessária a presença de insetos que transportarão os grãos de pólen entre as flores das diferentes cultivares (McGregor, 1976). No Brasil, estima-se o aluguel de mais de 100 mil colônias de *Apis mellifera* para a polinização de macieira, gerando cerca de quatro milhões de reais para o setor apícola (Vieira *et al.*, 2004, Freitas & Nunes-Silva, 2012).

O cultivo da macieira é uma atividade relativamente recente no Brasil, tendo um de seus polos de produção localizados na região Sul, particularmente nas regiões mais frias dos três estados (Petri *et al.*, 2011). No início da década de 70, a produção anual de maçãs era de cerca de 1.000 toneladas. Com incentivos fiscais e apoio a pesquisa e extensão rural, o sul do Brasil aumentou a produção de maçãs em quantidade e em qualidade (Boneti *et al.*, 2006). Em 2014 a produção foi 279.065 toneladas no Rio Grande do Sul (AGAPOMI, 2015), assim o País, em 40 anos, passou de importador de maçãs para auto-suficiente e potencial exportador do produto (Petri *et al.*, 2011).

Esta dissertação tem como objetivo contribuir para o estudo da macieira na região Sul do Brasil, por isso foi desenvolvida nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, os quais juntos respondem por 90% da produção de maçã ‘Gala’ e ‘Fuji’ no país. Para melhorar apresentar os resultados obtidos, esta dissertação foi dividida em dois capítulos, o primeiro apresenta o manuscrito intitulado: **“Avaliação de sistemas de plantio de macieiras em**

**relação à performance polinizadora de *Apis mellifera***”, o qual será submetido para publicação no periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB). A redação e formatação seguem às normas deste periódico, as quais estão disponíveis no anexo da dissertação, com exceção a norma referente à apresentação das figuras, as quais foram dispostas ao longo do capítulo para melhor entendimento. O segundo capítulo apresenta o manuscrito intitulado **“Atratividade dos recursos florais de macieira para *Apis mellifera*”**, o qual será submetido para publicação no periódico Scientia Horticulturae. A redação e formatação seguem às normas deste periódico, as quais estão disponíveis nos apêndices desta dissertação, com exceção das figuras que foram dispostas ao longo do capítulo, além da escrita em português.

### **Referências Bibliográficas**

BONETI, J., CESA, J., PETRI, J., BLEICHER, J. Evolução da cultura da macieira. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE SANTA CATARINA. A cultura da macieira. Florianópolis, 2006. p. 37-57.

BROOHAERTS, W., VAN NERUM, I., KEULEMANS, J. Update on and review of the incompatibility (S-) genotypes of apple cultivars. **HortScience**, v. 39, p. 943-947, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture - the international response. In: FREITAS, B. M.; PEREIRA, J. O.P. Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2004. p. 19-25.

FREITAS, B.M. The pollination efficiency of foraging bees on apple (*Malus domestica* Borkh) and cashew (*Anacardium occidentale* L.) 1995. 228p. Tese (Doutorado), University of Wales College.

FREITAS, B.M., NUNES-SILVA, P. Polinização agrícola e sua importância no Brasil. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V., CANHOS, D.A.L., ALVES, D.A., SARAIVA, A.M. Polinizadores no Brasil - contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais. São Paulo: EDUSP, 2012. p. 103-118.

GARRATT, M.P.D., BREEZE, T.D., JENNER, N., POLCE, C., BIESMEIJER, J.C., POTTS, S.G. Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 184, p. 34-40, 2014.

GIANNINI, T.C., CORDEIRO, G.D., FREITAS, B.M., SARAIVA, A.M., IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, 2015.

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

KVITSCHAL, M.V., DENARDI, F., SCHUH, F.S., MANENTI, D.C. Identificação de polinizadoras para a cultivar de macieira Daiane. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 9-14, 2013.

MARCO JR., COELHO, F.M. Services performed by the ecosystem: forest remnants influence agricultural cultures pollination and production. **Biodiversity and Conservation**, v. 13, p. 1245-1255, 2004.

MCGREGOR, S. E. Insect pollination of cultivated crop plants. Washington: Agriculture Research Service Department, 1976. 411p.

NATURAL RESEARCH COUNCIL. Status of Pollinators in North America. National Academic Press, Washington, 2006

OLLERTON, J., WINFREE, R., TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v. 120, p. 321–326, 2011.

PETRI, J.L., LEITE, G.B., COUTO, M., FRANCESCETTO, P. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 48-56, 2011.

RICKETTS T.H, REGETZ J., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A., KREMEN C., BOGDANSKI A., GEMMILL-HERREN B., GREENLEAF S.S., KLEIN A.M., MAYFIELD M.M., MORANDIN L.A., OCHIENG A., VIANA B.F. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? **Ecology Letters**, v. 11, p. 499-515, 2008.

VICENS, N., BOSCH, J. Pollinating Efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on ‘Red Delicious’ Apple. **Entomological Society of America**, v. 29, p. 235-240, 2000.

VIEIRA, G.H., SILVA R.F.R., GRANDE J.P. Uso da apicultura como fonte alternativa de renda para pequenos e médios produtores da região do Bolsão, MS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, Belo Horizonte, Minas Gerais. Anais. 2004.

## 2. CAPÍTULO 1

Avaliação de sistemas de plantio de macieiras em relação à performance polinizadora de *Apis mellifera*

Jenifer Dias Ramos<sup>1</sup> Patrícia Nunes-Silva<sup>2</sup>, Sidia Witter<sup>3</sup>, Marcos Botton<sup>4</sup>, e Betina Blochtein<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

E-mail: [jenifer.ramos@acad.pucrs.br](mailto:jenifer.ramos@acad.pucrs.br)

<sup>2</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

E-mail: [patricia.silva@pucrs.br](mailto:patricia.silva@pucrs.br)

<sup>3</sup>Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO) – Taquari. E-mail: [siwitter@gmail.com](mailto:siwitter@gmail.com)

<sup>4</sup>Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. E-mail: [marcos.botton@embrapa.br](mailto:marcos.botton@embrapa.br)

<sup>5</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. E-mail: [betinabl@pucrs.br](mailto:betinabl@pucrs.br)

**Resumo-** O sistema de plantio de macieira mais comum no Brasil consiste em linhas da cultivar comercial alternadas com linhas da cultivar "polinizadora", sendo comum o uso de colônias de *Apis mellifera* para assegurar a polinização cruzada. Em um pomar comercial foi avaliada a eficiência de dois sistemas de plantio com relação à performance polinizadora de *Apis mellifera*. O estudo foi conduzido em um pomar de maçã 'Gala', que apresentava dois sistemas de plantio: (1) convencional, que consiste em três linhas da cultivar comercial ('Gala') e duas linhas da cultivar "polinizadora" ('Fuji'); (2) plantio com 'floríferas', que consiste na plantação de árvores de maçã selvagem a cada seis metros na linha da cultivar

comercial. Frutos desses sistemas foram analisados em relação ao peso, número e distribuição de sementes nos carpelos. Seguimos 121 abelhas durante o vôo de forrageamento: 14% delas cruzaram entre as linhas do pomar e 94% coletaram néctar. Houve correlação entre o peso dos frutos e número de sementes e os frutos do sistema com floríferas apresentaram mais sementes ( $6 \pm 2$ ) do que os frutos do sistema convencional ( $5 \pm 2$ ). Estes resultados indicam que o sistema de plantio com floríferas foi relativamente melhor considerando o comportamento de forrageamento de *Apis mellifera*.

Palavras-chave: Polinização, Abelha melífera, Floríferas, *Malus domestica*, Forrageamento

**Abstract** – The apple planting system usually in Brazil consists of alternating rows of the commercial cultivar with lines of the "pollinator" cultivar, being common the use of *Apis mellifera* colonies to ensure cross-pollination. In commercial orchards we evaluated the efficiency of two planting systems with respect to the pollination performance of *Apis mellifera*. The study was conducted in an 'Gala' apple orchard that presented two planting systems: (1) conventional, consisting of three lines of the commercial cultivar ('Gala') and two rows of the "pollinizer" cultivar ('Fuji'); (2) planting with 'crab-apples', which consists in planting wild apple trees every six meters in the line of the commercial cultivar. Fruits from these systems were analysed in relation to weight, seed number and distribution among carpels. We followed 121 bees during foraging flight: 14% of them crossed between the lines of the orchard and 94% collected nectar. There was correlation between fruit weight and number of seeds, and the fruits of the 'crab-apple' system had more seeds ( $6 \pm 2$ ) than the fruit of conventional system ( $5 \pm 2$ ). These results indicate that the planting system with 'crab-apples' is better considering the foraging behavior of honey bees.

Key-words: Pollination, Honey Bees, Crab-Apples, *Malus domestica*, Foraging

## Introdução

A agricultura é um dos setores econômicos mais importantes no mundo e a produção de alimentos depende direta ou indiretamente de polinizadores (Klein *et al.* 2007, Aizen *et al.*, 2009). A polinização é um importante serviço ecossistêmico (Constanza *et al.*, 1997) e, nos agroecossistemas, estima-se que seja responsável pela produção e qualidade de 33% das culturas agrícolas (Klein *et al.*, 2007). As abelhas são os principais agentes polinizadores (Ricketts *et al.*, 2008), polinizando 73% das plantas cultivadas mundialmente (FAO, 2004). Entre elas, *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 é a principal espécie manejada para a polinização (Ricketts *et al.*, 2008).

Em 2015, Gianini e colaboradores após analisarem 141 culturas agrícolas, verificaram que 85 destas dependem em algum grau de polinizadores, sendo que um terço destas apresenta dependência alta ou essencial por polinização entomófila. A contribuição econômica dos polinizadores estimada pelos autores aproxima-se de 30% (em média US\$ 12 bilhões) do valor total da produção agrícola das culturas dependentes (US\$ 45 bilhões). Dentre essas destaca-se a macieira, a qual depende entre 40% e 90% de polinizadores (Klein *et al.*, 2007). No Brasil, o principal pólo de produção de maçãs está localizado na Região Sul, especificamente nas cidades mais frias dos três estados, em função da necessidade de temperaturas baixas e contínuas no inverno para que as plantas iniciem um novo ciclo vegetativo, com brotação e floração normais (Cardoso *et al.*, 2012).

Na safra 2013/2014 foram produzidas aproximadamente 1,2 milhões de toneladas de maçãs no Brasil (ABPM, 2015), sendo que no mundo é a quinta fruta mais produzida, superada apenas pela melancia, banana, uva e laranja (FAOSTAT, 2014).

A macieira (*Malus domestica* Borkh) é uma espécie que apresenta muitas cultivares com alto nível de autoincompatibilidade (Broothaerts *et al.*, 2004), sendo necessária a presença de cultivares chamadas de polinizadoras nos pomares, as quais fornecem pólen para

a polinização cruzada (Kvitschal *et al.*, 2013). O percentual mínimo de plantas polinizadoras num pomar é de 12%, distribuídas homogeneamente no pomar. Elas podem ser plantadas a distâncias de 10 m a 12 m ou na proporção de uma para cada oito plantas produtoras (Hofmann *et al.*, 2006). Todavia, apenas as árvores polinizadoras não garantem a polinização, pois é também necessária a presença de insetos para o transporte dos grãos de pólen entre as flores das diferentes cultivares (McGregor, 1976), sendo que os principais polinizadores são as abelhas coletoras de pólen (Dag *et al.*, 2012). No Brasil, estima-se o aluguel de mais de 100 mil colônias de *Apis mellifera* para a polinização de macieira, gerando cerca de quatro milhões de reais para o setor apícola (Vieira *et al.*, 2004, Freitas & Nunes-Silva, 2012).

O sistema de plantio mais frequente em pomares comerciais de maçã é o de retângulo. Esse sistema é o mais utilizado porque reduz a distância das plantas na linha, as quais estão dispostas em linhas simples da cultivar produtora, alternadas com linhas da cultivar polinizadora (Hoffmann *et al.*, 2004). Outro exemplo de sistema de plantio é o emprego da cultivar produtora em linha intercalada com plantas de macieira selvagens (floríferas), que fornecem maior quantidade de grãos de pólen compatíveis para a fertilização dos óvulos. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar qual desses dois sistemas de plantio favorece a polinização, considerando o comportamento de *Apis mellifera*, bem como avaliar a eficiência dessa abelha como polinizadora na cultura.

## **Material e Métodos**

### *Área de estudo*

O estudo foi conduzido na safra 2014/15 no período de setembro e outubro de 2014 (floração) e janeiro e fevereiro de 2015 (durante a colheita de frutos), em um pomar comercial

de maçã 'Gala' (S29 ° 12'17.1 " W050 ° 58'11.0) de 16 ha, localizado no município de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, o qual adotava as práticas convencionais de manejo.

O pomar apresentava dois sistemas de plantio: (1) plantio convencional (Figura 1) o qual consiste em três linhas de plantas da cultivar produtora ('Gala') e duas linhas da cultivar polinizadora ('Fuji') distantes em aproximadamente cinco metros e o (2) plantio com floríferas (Figura 2), o qual consiste no plantio de macieiras selvagens a aproximadamente cada seis metros na mesma linha da cultivar produtora ('Gala'). Essas macieiras selvagens (florífera) produzem mais flores que a cultivar produtora e frutos não comercializáveis.

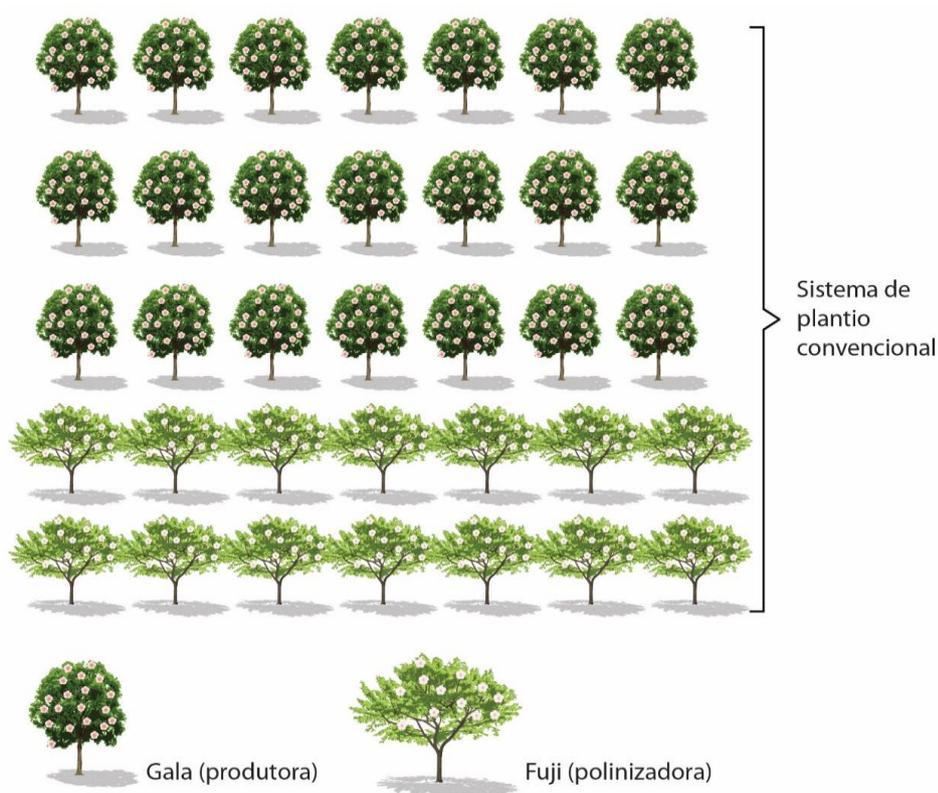


Figura 1. Esquema do sistema de plantio convencional de maçãs das cultivares 'Gala' e 'Fuji' com proporção de 3:2, respectivamente, implantado na Empresa Frutazza, município de Caxias do Sul, RS.

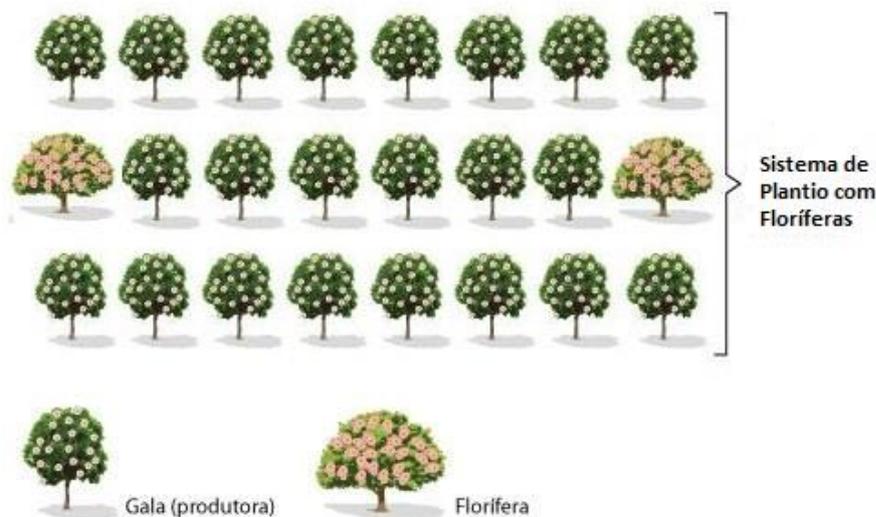


Figura 2. Esquema do sistema de plantio de maçãs com floríferas, as quais são introduzidas na mesma linha da cultivar produtora ‘Gala’, implantado na Empresa Frutazza, município de Caxias do Sul, RS.

### *Análise dos frutos*

Na colheita, em janeiro de 2015, foram coletados os frutos das árvores da cultivar ‘Gala’, as quais se localizavam a um metro do lado direito e a um metro do lado esquerdo de uma florífera. Este procedimento foi realizado em três locais escolhidos aleatoriamente dentro do pomar. No mesmo pomar, mas na linha do sistema de plantio de convencional foram coletados os frutos das árvores da cultivar ‘Gala’ a um metro ao lado direito e um metro ao lado esquerdo em relação a florífera, este procedimento também foi repetido três vezes.

Todos os frutos colhidos foram analisados quanto: (1) ao peso individual, com auxílio de uma balança analítica de precisão, (2) número de sementes por fruto e (3) distribuição das sementes entre os carpelos a partir de um corte equatorial. Para esta última os frutos foram categorizados segundo Sheffield (2014), com base na ausência (0) ou presença (1) de sementes nos carpelos. A metodologia proposta pressupõe oito categorias para a distribuição

de sementes nos carpelos: A) 1,1,1, 1,1; B)1, 1, 1, 1, 0; C) 1, 1, 1, 0, 0; D) 1, 1, 0, 0, 0; E) 1, 0, 0, 0,0; F) 1, 0, 1, 0, 1; G) 1, 0, 1, 0, 0; e H) 0, 0, 0, 0, 0 (Figura 3).

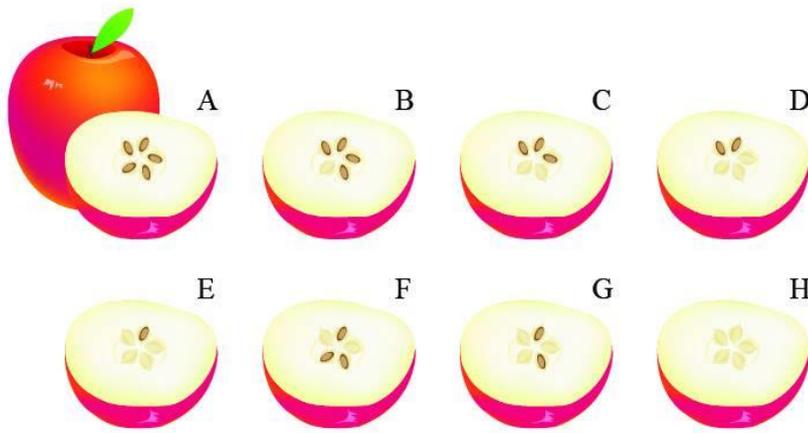


Figura 3: Categorias adotadas para representar as combinações de distribuição das sementes entre os carpelos (Sheffield, 2014).

### *Comportamento de forrageamento*

Em um pomar experimental de um hectare, localizado na Estação Experimental de São Joaquim em Santa Catarina, com as cultivares ‘Gala’ e ‘Fuji’ na proporção de 1:1, o qual adotava as práticas convencionais de manejo, foi avaliado o comportamento durante a visita de 104 abelhas em flores da cultivar ‘Gala’ e 99 abelhas em flores da cultivar ‘Fuji’, totalizando 203 abelhas. As observações foram realizadas entre 11 horas e 13 horas, considerado o pico da atividade de vôo das abelhas, no período de plena floração do pomar, ao longo de três dias. Para cada visita foram avaliados: (1) o recurso floral coletado (néctar e/ou pólen), (2) se o acesso da abelha era realizado pela lateral da flor ou por cima dos órgãos reprodutivos, e (3) se as abelhas tocavam as anteras e/ou estigmas.

Além disso, no pomar comercial de ‘Gala’ em Caxias do Sul, 121 abelhas foram seguidas durante o voo de forrageio no máximo de tempo que foi possível, ou seja, a observação foi interrompida somente quando a abelha não pode mais ser vista. Estas avaliações foram realizadas entre 11 horas e 13 horas. Os parâmetros comportamentais analisados foram: (1) cruzamento entre linhas: se elas voaram entre as linhas do pomar ou entre flores da mesma linha; e (2) o tipo de recurso floral (néctar ou pólen) coletado.

### *Análise de dados*

A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico ‘PAST 3.10’ (Hammer *et al.*, 2001). Para análise de correlação entre o peso dos frutos e o número de sementes realizou-se o teste de Spearman. Para comparar o número de frutos por sistema de plantio e o peso individual dos frutos oriundos dos dois sistemas de plantio utilizou-se o teste de Mann-Whitney.

## **Resultados e Discussão**

Na cultivar analisada (‘Gala’), houve correlação positiva entre o peso do fruto e o número de sementes (teste de correlação de Spearman  $p < 0,05$ ;  $r = 0,23$ ), fato também observado nos trabalhos de Brault (1995), Matsumoto (2010) e Sheffield (2014). O número total de frutos por sistema de plantio e o peso médio dos frutos oriundos dos dois sistemas de plantio não diferiram (teste de Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ) (Tabela 1). Entretanto, os frutos provenientes do sistema de plantio com floríferas apresentaram mais sementes ( $6 \pm 2$ ) do que os oriundos do sistema de plantio convencional ( $5 \pm 2$ ; teste de Mann-Whitney,  $p < 0,05$ ). Além disso, 40% destes frutos apresentavam sementes em todos os carpelos, enquanto apenas 27% dos frutos provenientes do sistema de plantio convencional seguiram esse padrão (Figura4). O número de sementes por fruto e a distribuição nos carpelos estão associados à

simetria da maçã (Sheffield, 2014). As flores de macieira apresentam dez óvulos, sendo necessários dez grãos de pólen para formação de um fruto com dez sementes (Brault *et al.*, 1995). O número de sementes em uma maçã reflete o grau de fertilização, portanto os produtores que visam uma produção de qualidade devem tentar alcançar a polinização ideal (Brault *et al.*, 1995).

Tabela 1: Características quantitativas e qualitativas de frutos de macieiras ‘Gala’ produzidas em dois sistemas de plantio em pomar comercial.

	Plantio convencional	Plantio com floríferas
Número de frutos (total)	770	783
Peso médio $\pm$ desvio padrão (g)	110,41 $\pm$ 29,07a	105,38 $\pm$ 23,12a

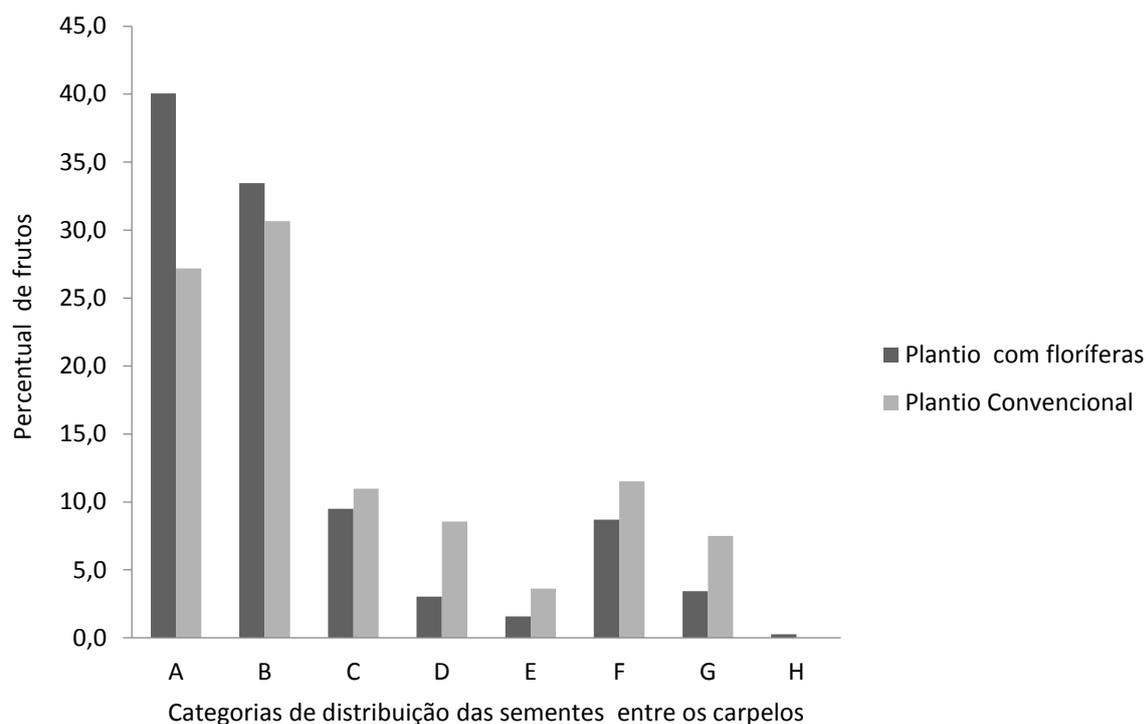


Figura 4: Percentual de frutos provenientes dos sistemas de plantios em Caxias do Sul, RS, segundo as categorias de distribuição de sementes propostas por Sheffield (2014).

Estudos anteriores encontraram uma correlação positiva entre a distribuição de sementes e a simetria dos frutos (Latimer, 1933, Brault *et al.*, 1995, Sheffield, 2014), embora neste trabalho a simetria não tenha sido analisada, a partir dos dados levantados sugere-se que os frutos provenientes do sistema de plantio com floríferas serão mais simétricos, devido ao maior número de sementes ( $6 \pm 2$ ) apresentadas e sua distribuição entre os carpelos. Além disso, a partir da comparação do número de sementes/fruto em ambos os sistemas de plantio, é possível verificar que o plantio com floríferas favoreceu a polinização das flores. O peso e a simetria da maçã são características que agregam valor econômico ao produto, pois para a comercialização são classificados em quatro categorias: Extra, CAT1, CAT2 e CAT3 (Petri *et al.*, 2003). As primeiras categorias, respectivamente, são consideradas produtos de “mesa”, os quais tem o valor mais alto e são comercializados aos consumidores que primam pela

qualidade visual. Portanto, é possível pressumir que o sistema de plantio com floríferas produz frutos de melhor qualidade.

Em relação ao comportamento das operárias de *Apis mellifera* em visita às flores da cultivar ‘Gala’ verificou-se que 94% das 104 abelhas avaliadas coletaram néctar e 6% coletaram pólen. Das abelhas que coletaram néctar, 44% obtiveram o recurso pela lateral da flor e, destas apenas 15% tocaram as anteras e 11% tocaram os estigmas. Das abelhas restantes, 56% realizaram a coleta de néctar por cima da flor, destas 92% tocaram as anteras e 85% tocaram os estigmas florais. As abelhas coletoras de pólen realizaram a coleta apenas por cima da flor e 100% tocaram as anteras e os estigmas.

Para a cultivar ‘Fuji’, das 99 abelhas avaliadas, 93 % coletaram néctar e 7% coletaram pólen. Das abelhas que coletaram néctar, 35% realizaram a coleta pela lateral da flor, destas apenas 6% tocaram anteras e 6% tocaram os estigmas durante a visita floral. Todas as coletoras de néctar que realizaram a coleta por cima da flor (65%) tocaram as anteras e 95% tocaram os estigmas florais. As coletoras de pólen realizaram as visitas sempre por cima da flor e todas tocaram anteras e estigmas.

Nesse estudo os resultados indicam que as abelhas coletoras de pólen provavelmente são mais eficientes como polinizadoras das cultivares ‘Gala’ e ‘Fuji’ do que as coletoras de néctar, pois sempre abordam a flor por cima, tocando os estigmas e as anteras, proporcionando a polinização efetiva das flores de macieira. Dados semelhantes sobre a eficiência das forrageiras coletoras de pólen em comparação com as coletoras de néctar, foram encontrados para a cultivar ‘Red Delicious’, em trabalho realizado por Dag e colaboradores (2005), em pomares no norte de Israel.

Observações semelhantes sobre esse comportamento de *Apis mellifera* foram feitas por Silva (2009), em pomares das cultivares Eva e Princesa na Chapada Diamantina, Bahia. Neste trabalho o comportamento de coleta de néctar e pólen também apresentou diferença. Durante

a coleta de néctar as abelhas pousavam na base das pétalas da flor, abrindo os estames e os estiletos, tocando menos frequentemente os estigmas florais. Na coleta de pólen, por sua vez, as abelhas pousavam por cima dos estiletos e ao retirar os grãos de pólen das anteras tocavam os estigmas florais, favorecendo o processo da polinização (Silva, 2009). Comportamento semelhante de *Apis mellifera* nas flores de macieira também foi registrado em outros estudos (Robison, 1980; Robinson & Fell 1981; Mayer, 1987; Vicens & Bosch, 2000; Schneider *et al.*, 2002). Além disso, estudos de Free & Williams, em 1972, e Kendall em 1973, analisaram a viabilidade do pólen aderido ao corpo de coletoras de pólen e néctar, e a constância de forrageio em uma mesma cultivar por cada tipo de forrageira. Os autores constataram que o pólen encontrado nas coletoras de pólen é mais viável, o que se explica pelo fato destas abelhas buscarem o recurso em flores recém abertas, enquanto as coletoras de néctar buscam o recurso em flores mais velhas. Sobre a constância de forrageio, as coletoras de pólen apresentaram menor constância a uma cultivar em comparação com coletoras de néctar. Este comportamento favorece a polinização cruzada, aumentando a eficácia da polinização de macieiras pelas abelhas coletoras de pólen (Robinson & Fell 1981; Vicens & Bosch, 2000). Em relação ao comportamento de forrageio durante o voo das 121 abelhas seguidas e observadas, 94% coletaram néctar e 6% coletaram pólen. Embora seja reconhecido o papel de *Apis mellifera* na polinização de macieira (Freitas, 1995), estas abelhas podem não ser tão eficientes ao contatar os órgãos sexuais da flor de maçã, quando comparadas às outras espécies de abelhas já estudadas (McGregor, 1976, Vicens & Bosch, 2000), o que está relacionado pelo menos em parte com o comportamento de coleta dos recursos (Silva, 2009). Posto isso, outras abelhas, a exemplo de espécies de *Andrena*, *Bombus*, *Halictus* e *Osmia* têm sido mencionadas na literatura como potenciais polinizadores de macieira (McGregor, 1976, Vicens & Bosch, 2000). Em 1995, Vicens & Bosch (2000) analisaram a eficiência de polinização e o comportamento de forrageio de *Osmia cornuta* e *Apis mellifera* em um pomar

de maçã na Espanha, e verificaram que mais de 97% dos exemplares de *Apis mellifera* coletavam apenas néctar enquanto os indivíduos de *Osmia cornuta* coletaram pólen em todas as suas visitas. Devido à alta dependência de polinização cruzada desta cultura (McGregor, 1976), visto o nível de autoincompatibilidade das cultivares (Broothaerts *et al.*, 2004), é necessário que *Apis mellifera* esteja majoritariamente coletando pólen e o transportando entre as flores das diferentes cultivares bem como tocando os estigmas das flores para viabilizar a polinização e a produção de frutos. Geralmente o baixo rendimento e/ou má qualidade do fruto são atribuídos ao desempenho ineficiente da polinização por abelhas (Garratt *et al.*, 2013).

No Brasil, em 2014, Viana e colaboradores, realizaram um estudo em pomares de ‘Eva’ e ‘Princesa’, com sete colméias de *Apis mellifera* por hectare, verificando que o maior adensamento de abelhas na área não fez diferença na produção e no número de sementes. Para tanto testaram a suplementação com 12 colméias da abelha sem ferrão *Melipona quadrifasciata anthidioides*, e verificaram aumento dos frutos e número de sementes. Portanto este manejo com ambas as espécies de abelhas pode melhorar a polinização de macieiras (Viana *et al.*, 2014). Entretanto, ainda é preciso mais estudos que objetivem conhecer o papel das espécies nativas avaliando o seu potencial para polinização de macieira.

Ainda sobre o comportamento das abelhas observadas foi verificado que apenas 14% delas cruzaram entre as linhas dos pomares. Estes dados sugerem que a conformação adotada para a distribuição das árvores nos pomares de maçã (sistema de plantio convencional) não é a mais eficiente com relação à necessidade de polinização cruzada que a cultura demanda. Nesse caso, o sistema de plantio com floríferas, onde há apenas a cultivar produtora em linha alternada com macieiras selvagens –floríferas– na mesma linha, é mais eficiente para a polinização por *Apis mellifera*, visto que 79% das abelhas não cruzaram as linhas dos pomares durante seu voo de forrageamento. No Japão, este tipo de sistema de plantio com

floríferas está aumentando, devido à questão da polinização, da aplicação de agroquímicos em cultivares tardias, e o melhor manejo dos pomares (Matsumoto, 2010).

Embora seja reconhecido o papel de *Apis mellifera* para o aumento de qualidade e quantidade de produção de diversas culturas, a exemplo da cultura da laranja (Malerbo-Souza *et al.*, 2003a), do meloeiro (Trindade *et al.*, 2003), da cebola (Witter & Blochtein, 2003) da canola, (Rosa *et al.*, 2010), entre outras, é necessário que, além da presença das abelhas silvestres, seja promovido nos pomares o manejo dirigido de colônias para favorecer a coleta de pólen nas flores de macieira e proporcionar a polinização efetiva da cultura. Manejos adicionais, como a utilização de coletores de pólen na entrada das colônias de *Apis mellifera* também aumentam a eficiência polinizadora destas abelhas (Viana *et al.*, 2014). O aumento da densidade de abelhas, bem como a introdução sequencial das colônias durante o período de floração, aumenta o número de visitas por flores, e também a mobilidade das operárias nas linhas dos pomares, refletindo diretamente no rendimento do pomar (Stern *et al.*, 2001). Além destes fatores de manejo, a disposição das árvores nos pomares de acordo com o comportamento de forrageamento de *Apis mellifera* deve ser considerada, visto que esta espécie é amplamente utilizada na cultura da maçã.

## Conclusões

1. O sistema de plantio com floríferas favorece a polinização das flores de macieiras, considerando o comportamento de forrageamento de *Apis mellifera*, que voa majoritariamente na mesma linha.
2. A preferência de *Apis mellifera* pela coleta de néctar nas flores de macieiras reduz sua eficiência de polinização, uma vez que durante a coleta deste recurso elas

nem sempre tocam os estigmas florais, devido a seu acesso ao recurco pela lateral na flor.

3. A polinização eficaz da macieira resulta da visita legítima de *Apis mellifera* tocando os órgãos sexuais da flor, a qual preponderantemente ocorre durante a coleta de pólen nas flores.

## Agradecimentos

À CAPES pela bolsa de estudos concedida. À EMBRAPA, especialmente a técnica Vania Maria Sganzerla pelo apoio no campo. À FRUTAZZA por permitir realizar a pesquisa em sua propriedade.

## Referências Bibliográficas

AIZEN, M. A.; GARIBALDI, L. A.; CUNNINGHAM, S. A.; KLEIN, A. M. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. **Annals of botany**, v.103, p.1579–1588, 2009.

BRAULT, A.; OLIVEIRA, D. Seed number and an asymmetry index of 'McIntosh' apples. **HortScience**, v.30, p. 44-46, 1995.

BROOHAERTS, W.; VAN NERUM, I.; KEULEMANS, J. Update on and review of the incompatibility (S-) genotypes of apple cultivars. **HortScience**, v.39, p.943-947, 2004.

CARDOSO, L.S. **Modelagem aplicada à fenologia de macieiras “Royal Gala” e “Fuji Suprema” em função do clima, na região de Vacaria, RS.** 2011. 182 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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

DAG, A.; STERN, R.; SHAFIR, S. Honey bee (*Apis mellifera*) strains differ in apple (*Malus domestica*) pollen foraging preference. **Journal of Apicultural Research**, v.44, p.15-20, 2005.

DAG, A.; AFIK, O.; STERN, R.A.; SHAFIR, S. Selection and breeding of honey bee strains for pollination of tree crops. In: PROCEEDINGS OF THE 1<sup>ST</sup> API ECOFLORA SYMPOSIUM, 2012, San Marino. **Anais**. p.15.

FREE, J B.; WILLIAMS, I H. The transport of pollen on the body hairs of honeybees (*Apis mellifera* L.) and bumblebees (*Bombus* spp. L.). **Journal of Applied Ecology**, v.9, p.609-615, 1972.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture - the international response. In: FREITAS, B. M.; PEREIRA, J.O.P. **Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2004. p.19-25.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANAZATION OF THE UNITED NATIONS. STATISTICAL DIVISION (FAOSTATS), 2013. 254p. Disponível em: <http://faostat.fao.org/default.aspx>. Acesso em: 20 de nov. 2015.

FREITAS, B.M. **The pollination efficiency of foraging bees on apple (*Malus domestica* Borkh) and cashew (*Anacardium occidentale* L.)**. 1995. 228p. Tese (Doutorado), University of Wales College.

FREITAS, B.M.; NUNES-SILVA, P. Polinização agrícola e sua importância no Brasil. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V.; CANHOS, D.A.L.; ALVES, D.A.; SARAIVA, A.M. **Polinizadores no Brasil - contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: EDUSP, 2012. p.103-118.

GARRATT, M.P.D.; BREEZE, T.D.; JENNER, N.; POLCE, C.; BIESMEIJER, J.C.; POTTS, S.G. Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.184, p.34-40, 2014.

GIANNINI, T.C.; CORDEIRO, G.D.; FREITAS, B.M.; SARAIVA, A.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v.108, p.849-857, 2015.

HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D.; **PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis**. 2001. 9p. Disponível em: <http://palaeoelectronica.org/20011/past/issue101.htm>. Acesso em: 15 de dez. 2015.

HOFFMAN, A.; PETRI, J., LEITE, G.; BERNARDI, J. **Maçã, produção. Produção de mudas e plantio.** Série Frutas do Brasil, 37. Embrapa Uva e Vinho. Brasília. 2004. 170 p.

HOFFMAN, A.; BERNARDI, J. **Maçã, produção. Aspectos botânicos.** Série Frutas do Brasil, 37. Embrapa Uva e Vinho. Brasília. 2004. 170 p.

KENDALL, D A. Viability and compatibility of pollen on insects visiting apple blossom. **Journal of Applied Ecology**, v.10, p.847-853, 1973.

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

KVITSCHAL, M.V.; DENARDI, F.; SCHUH, F.S.; MANENTI, D.C. Identificação de polinizadoras para a cultivar de macieira Daiane. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.9-14, 2013.

MALERBO-SOUZA D.T.; NOGUEIRA-COUTO R.H.; COUTO L.A. Polinização em cultura de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck, var. Pera-rio). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.237-242, 2003.

MATSUMOTO, S. Development of safe new cultivation system for apples based on S-RNase and SSR information. In: SAMPSON, A.N. **Horticulture in the 21<sup>st</sup> century**. Nova Science Publishers, 2010. p. 203-211.

MAYER, D F.; JOHANSEN, C A.; LUNDEN, J D. Bee pollination of tree fruits. In: PETERSON, B. **Pollination and fruit set- short course proceedings**. Washington: Goodfruit Grower, 1985. p.57-70.

MCGREGOR, S.E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: Agriculture Research Service Department, 1976. 411p.

LATIMER, L.P. **Pollination and fruit setting in the apple**. New Hampshire Agricultural Experiment Station Bulletin, 1933. 274p.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v.120, p.321-326, 2011.

PETRI, J.; LEITE, G.; CESA, J. Padronização e classificação da maçã. In: EMPRESA DE PESQUISA RURAL AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO DE SANTA CATARINA. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2006. p. 37-57.

RICKETTS T.H.; REGETZ J.; STEFFAN-DEWENTER I.; CUNNINGHAM S.A.; KREMEN C.; BOGDANSKI A.; GEMMILL-HERREN B.; GREENLEAF S.S.; KLEIN A.M.; MAYFIELD M.M.; MORANDIN L.A.; OCHIENG, A.; VIANA B.F. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? **Ecology Letters**, v.11, p.499-515, 2008.

ROBISON, W.S. **The behavior of honey bees on “Delicious” apple blossoms**. 1980. 90p. Tese (Doutorado), University of Cornell.

ROBINSON, W S.; FELL, R D. Effect of honey bee foraging behaviors on ‘Delicious’ apple set. **HortScience**, v.104, p.326-328, 1981.

ROSA, A.S.; BLOCHTEIN, B.; FERREIRA, N.R.; WITTER, S. *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as a potencial *Brassica napus* pollinator (cv. Hyola 432) (Brassicaceae), in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.70, p.1075–1081, 2010.

SALOMÉ, J.A. **Polinização dirigida em pomares de macieiras (*Malus domestica* Borkh) com o uso de colmeias de *Apis mellifera* L.** 2014. 137p. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina.

SILVA, E. **Polinização da macieira (*Malus domestica* Borkh) na Chapada Diamantina, BA.** 2009. 63p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia.

SHEFFIELD, C.S. *Osmia lignaria* (hymenoptera: megachilidae) in the Annapolis valley, Nova Scotia, Canada. **Journal of Pollination Ecology**, v.12, p.120-128, 2014.

SCHNEIDER, D.; STERN, R A.; EISIKOWITCH, D.; GOLDWAY, M. The relationship between floral structure and honeybee pollination efficiency in ‘Jonathan’ and ‘Topred’ apple cultivars. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.77, p.48-51, 2002.

TRINDADE, A.M.S.; SOUSA, A.H.; VASCONCELOS, W.E.; FREITAS, R.D.S.; SILVA, A. M. A.; PEREIRA, D.S.; BORGES, P. Avaliação da polinização e estudo comportamental de *Apis mellifera* L. na cultura do meloeiro em Mossoró, RN. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.4, 2004.

VIANA, B.; COUTINHO, J.; GARIBALDI, L.; CASTAGNINO, G.; GRAMACHO, K.; SILVA, F. Stingless bees further improve apple pollination and production. **Journal of Pollination Ecology**, v.14, p.261-269, 2014.

VICENS, N.; BOSCH, J. Pollinating Efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on 'Red Delicious' Apple. **Entomological Society of America**, v.29, p.235-240, 2000.

VIEIRA, G. H.; SILVA R. F. R.; GRANDE J. P. Uso da apicultura como fonte alternativa de renda para pequenos e médios produtores da região do Bolsão, MS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2. Belo Horizonte, Minas Gerais. **Anais**. 2004

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B. Efeito da polinização por abelhas e outros insetos na produção de sementes de cebola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.1399-1407, 2003.

### 3. CAPÍTULO 2

Atratividade dos recursos florais de macieira para *Apis mellifera*

Jenifer Dias Ramos<sup>1</sup>, Sidia Witter<sup>2</sup>, Betina Blochtein<sup>3</sup> e Patrícia Nunes-Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

E-mail: [jenifer.ramos@acad.pucrs.br](mailto:jenifer.ramos@acad.pucrs.br)

<sup>2</sup>Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO) – Taquari. E-mail: [siwitter@gmail.com](mailto:siwitter@gmail.com)

<sup>3</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.. E-mail: [betinabl@pucrs.br](mailto:betinabl@pucrs.br)

<sup>4</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. E-mail: [patricia.silva@pucrs.br](mailto:patricia.silva@pucrs.br)

RESUMO - A macieira é uma espécie que apresenta muitas cultivares, sendo a maioria delas altamente autoincompatíveis. Devido à necessidade de polinização cruzada, é comum o uso de *Apis mellifera* para aumentar a produtividade dos pomares de macieira no Brasil. O objetivo deste estudo foi comparar a oferta de recursos florais entre as cultivares de *Malus domestica* ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’ e avaliar a taxa de visitação de *Apis mellifera*. Em um pomar de coleções, foi avaliado a abundância floral, o volume do néctar e seu teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix) e o número de grãos de pólen por flor para as quatro cultivares. Além disso, em um pomar experimental, foi verificada a taxa de visitação de *Apis mellifera* nas flores das cultivares ‘Gala’ e ‘Fuji’ e calculado um modelo linear generalizado misto para verificar qual a cultivar mais atrativa. ‘Gala’ foi mais atrativa

para as abelhas, apresentando maior abundância de flores, volume de néctar e quantidade de grãos de pólen por flor. Comparando os recursos florais das cultivares analisadas ('Fuji', 'Fuji Suprema', 'Gala' e 'Imperial Gala'), 'Imperial Gala' pode ser considerada a cultivar mais atrativa.

Palavras-chave: néctar, pólen, abelha melífera, 'Fuji', 'Gala'

**ABSTRACT** –The cultivated apple presents several cultivars, being most of them highly self incompatible. Because of the need for cross pollination, it is common the use of *Apis mellifera* to increase the productivity of apple orchards in Brazil. The goal of this study was to compare the offer of floral resources between cultivars of *Malus domestica* 'Fuji', 'Fuji Suprema', 'Gala' and 'Imperial Gala' and to evaluate the visitation rate of *Apis mellifera*. In a collection orchard it were evaluated the floral abundance, the nectar volume and its soluble solids content (Brix) and the number of pollen grains per flower for the four varieties. Besides this, in an experimental orchard, the visitation rate of *Apis mellifera* in 'Fuji' and 'Gala' was verified and a linear mixed model calculated to verify which cultivar was the most attractive. 'Gala' was the most attractive for the bees, presenting higher abundance of flowers, volume of nectar and amount of pollen grains per flower. Comparing the flower resources of all cultivars, 'Imperial Gala' can be considered the most attractive.

Key-words: néctar, pollen, honey bee, 'Fuji', 'Gala'

## **INTRODUÇÃO**

A macieira (*Malus domestica* Borkh) é uma espécie que apresenta muitas cultivares, sendo a maioria delas autoincompatíveis (Free, 1960, Broothaerts *et al.*, 2004). Dessa maneira, a macieira é altamente dependente de polinização cruzada para a obtenção de safras

anuais satisfatórias (McGregor, 1976). Além disso, em virtude dessa incompatibilidade gametófitica, a polinização e a frutificação efetivas somente são asseguradas com a presença de cultivares chamadas polinizadoras nos pomares, as quais florescem simultaneamente à cultivar produtora e fornecem grãos de pólen compatíveis (Kvitschal *et al.*, 2013). Entretanto, apenas as árvores polinizadoras não garantem a polinização, pois os índices de fecundação das flores e sua frutificação também estão relacionados com a frequência e o comportamento de coleta de alimentos pelos polinizadores. No caso da maçã, as abelhas *Apis mellifera* são os principais agentes polinizadores (Dag *et al.*, 2012). É comum o uso de colmeias desta espécie para aumentar a produtividade dos pomares de macieira no Brasil, onde se estima o aluguel anual de mais de 100 mil colônias (Freitas & Nunes-Silva, 2012).

A produção de maçã no Brasil na safra de 2013/2014 foi 1,2 milhão de toneladas, sendo 59% Gala, 34% Fuji e 7% de outras cultivares (ABPM, 2014), a qual está distribuída majoritariamente na Região Sul. Entretanto, instituições de pesquisa já desenvolveram novas cultivares, mais adaptadas ao clima do local de cultivo e resistentes às pragas e doenças, sendo estes os principais objetivos do melhoramento genético de macieiras (Hoffmann & Bernardi, 2004). Considerando essa tendência em se desenvolver novas cultivares, é essencial compreender os fatores que afetam a produção e a qualidade dos frutos, dentre elas destaca-se a atratividade floral e a polinização, fatores pouco considerados durante a construção de uma nova cultivar (Sheffield *et al.*, 2013).

Para garantir sua reprodução, as plantas possuem mecanismos para a atração dos polinizadores (Dafni, 1992). Inicialmente, estes são atraídos pelo odor, cor e forma das flores. Além destas características, a quantidade e qualidade do néctar e pólen disponibilizados pelas flores são importantes na atração dos polinizadores (Carrillo & Ríos, 2014). O nectário das flores de macieira é do tipo receptacular e se localiza entre os estames e o ovário (Farkas *et al.*, 2000). Seu produto, o néctar, é composto basicamente de água e açúcares, principalmente

sacarose, glicose, e frutose (Labare *et al.*, 2000). Conforme Free (1993), as diferenças nas condições climáticas interferem na maior ou menor secreção de néctar, podendo ocorrer diferenças no volume secretado pelas flores de plantas da mesma cultivar, bem como no volume de néctar secretado entre as cultivares. O néctar exerce atração de polinizadores às flores, sendo considerado material de recompensa para estes, na forma de alimento energético (Salomé, 2014). Os grãos de pólen, por sua vez, são produzidos nas anteras e compostos basicamente por proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, sendo utilizado pelas abelhas como fonte de proteínas e vitaminas (Schulte *et al.*, 2008).

Existem poucas indicações na literatura que demonstrem as diferenças entre as cultivares quanto às características das flores, a produção de néctar e pólen, e como estas estão relacionadas às taxas de visitas dos visitantes florais, especialmente as abelhas. Deste modo, o objetivo deste estudo foi comparar a oferta de recursos florais entre as cultivares de *Malus domestica* ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’ e avaliar a taxa de visitação de *Apis mellifera*.

## **MATERIAS E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

Este estudo foi conduzido no ano de 2015, durante os meses de setembro e outubro, período de floração das macieiras, na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), localizada no município de São Joaquim/SC. Para as avaliações foram utilizadas árvores da coleção de macieiras e um pomar comercial de um hectare com as cultivares ‘Fuji’ e ‘Gala’ na proporção de 1:1.

### **Abundância floral em cultivares de macieira**

A abundância de flores das cultivares ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’, foi estimada no período de plena floração, a partir da contagem do número de ramos inferiores (a partir do nível do solo até 1,5 m) e de ramos superiores (a partir de 1,5 m acima do solo) de cada árvore amostrada. Para as cultivares ‘Fuji’ e ‘Gala’ foram amostradas 10 árvores, para as cultivares ‘Fuji Suprema’ e ‘Imperial Gala’ foram amostradas três árvores, número disponível dessas cultivares na coleção da Estação Experimental. Após essa contagem foram escolhidos dois ramos inferiores e dois ramos superiores aleatoriamente para cada árvore e contado o número de inflorescências. Posteriormente foi calculada a média das inflorescências dos ramos inferiores e a média das inflorescências dos ramos superiores, e multiplicado pelo total de ramos inferiores e superiores, respectivamente. O número total de inflorescências foi multiplicado por cinco (número médio de flores/inflorescência, determinado em 25 repetições para cada cultivar) para estimar o número total de flores por árvore (Salomé, 2014).

### **Avaliação do néctar**

Para a quantificação do volume de néctar das flores das cultivares ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’ foram ensacados respectivamente 17, 13, 16 e 16 botões florais. A coleta de néctar foi realizada quando a flor estava com as pétalas bem estendidas, inserindo microcapilares de vidro de 1,0 µL na base das pétalas das flores. A coluna de néctar nos microcapilares foi mensurada com auxílio de paquímetro para cálculo do volume coletado (Dafni *et al.*, 2005).

Para avaliar a concentração de Sólidos Solúveis Totais (SST), visto que o volume de néctar nas flores de macieira é reduzido, diluiu-se o volume coletado em 2,0 µl de água destilada e posteriormente mediu-se a concentração utilizando-se refratômetro manual de 0 a

50% °Brix (Dafni *et al.*, 2005). Esta avaliação foi realizada com as cultivares da coleção da Estação Experimental.

### **Quantificação do pólen**

Foram ensacados 20 botões florais de cada cultivar ('Fuji', 'Fuji Suprema', 'Gala' e 'Imperial Gala'), durante 24 horas, após isso foram coletadas as flores e contado o número de estames por flor. Quatro anteras de cada flor foram armazenadas em tubos eppendorf de 2000 µl contendo 1500 µl de uma solução de ácido láctico. No laboratório, estas anteras foram maceradas dentro da própria solução e desta retirado um volume de 20 µl. A solução foi colocada em uma lâmina de vidro e todos os grãos de pólen presentes contados sob microscópio óptico, com aumento de 100 vezes.

Estimou-se a quantidade de grãos de pólen em cada antera a partir da multiplicação do número de grãos de pólen contados na amostra de 20 µl pelo volume do ácido láctico da diluição (1500 µl) e dividindo este valor pelo volume de ácido láctico da amostra (20 µl) (Dafni *et al.*, 2005). Posteriormente dividiu-se o resultado pelo número de anteras de cada tubo (4) para estimar o número de grãos de pólen por antera. Esse valor foi multiplicado pelo número total de anteras de cada flor amostrada para estimar o número de grãos de pólen por flor de cada cultivar. Esta avaliação foi realizada com as cultivares da coleção da Estação Experimental.

### **Taxa de visitação de *Apis mellifera***

Para comparar a atratividade das flores das cultivares 'Fuji' e 'Gala' para as abelhas, verificamos a taxa de visitação entre os dias 28 de setembro e 4 de outubro de 2015, durante 10 minutos para cada cultivar, às 13 horas e às 15 horas, horário com maior atividade de voo de *Apis mellifera*. Esta avaliação foi realizada em um pomar experimental de um hectare na

proporção de 1:1 ('Gala':'Fuji') na Estação Experimental de São Joaquim. Para isso escolhemos um número aleatório de ramos a altura do peito e contamos o número de flores presentes, o número de abelhas e o número de visitas que as flores receberam durante os dez minutos de observação. Apenas as cultivares 'Fuji' e 'Gala' foram testadas em virtude da ausência de pomares com as cultivares 'Fuji Suprema' e 'Imperial Gala' na Estação Experimental. O pressuposto desta avaliação foi que as flores mais visitadas consequentemente são as mais atrativas para as abelhas.

### **Análise estatística**

Os resultados da abundância floral foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Os dados referentes ao volume e concentração do néctar, bem como a quantidade de pólen das cultivares foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliar se apresentavam distribuição normal. Posteriormente foi realizada análise de variância (ANOVA) e, quando verificada a significância das variáveis, realizou-se comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para análise de correlação entre o volume de néctar e concentração de SST por cultivar utilizou-se o teste de Spearman. Estas análises foram conduzidas com o programa estatístico R versão 3.2.3 (R Core Team, 2015).

Para avaliar a atratividade das flores de 'Fuji' e 'Gala' para *Apis mellifera* foi calculado um modelo linear generalizado misto. O efeito fixado foi o número de flores, e as variáveis resposta foram o número de visitas e o número de abelhas. Estas análises foram executadas com o programa estatístico R versão 3.2.3 (R Core Team, 2015) utilizando a função "lmer" do pacote "lme4" (Bates *et al.*, 2015).

## RESULTADOS

O número de flores por árvore diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) entre a cultivar Fuji e ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’, não havendo diferença significativa entre essas três últimas (Tabela 1).

Tabela 1: Abundância média de flores por árvore das cultivares ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’, na Estação Experimental da Epagri, em São Joaquim, Santa Catarina.

	Fuji	Fuji Suprema	Gala	Imperial Gala
Nº médio de flores/árvore	$1.413 \pm 570$ a	$3.475 \pm 803$ b	$2.692 \pm 980$ b	$3.563 \pm 700$ b

Verificamos que o volume de néctar das flores das quatro cultivares de macieiras avaliadas não diferiu (Shapiro-Wilk  $W = 0,98$ ,  $p > 0,05$ ; Tukey  $p > 0,05$ ) (Figura 1) (Material Suplementar 1). A concentração de Sólidos Solúveis Totais no néctar, por sua vez, diferiu entre as cultivares (Shapiro-Wilk  $W = 0,96$ ,  $p < 0,05$ ; Tukey  $p < 0,05$ ) (Figura 2) (Material Suplementar 2). Não houve correlação entre volume de néctar e a concentração de SST no néctar das cultivares estudadas (teste de correlação de Spearman,  $p > 0,05$ ).

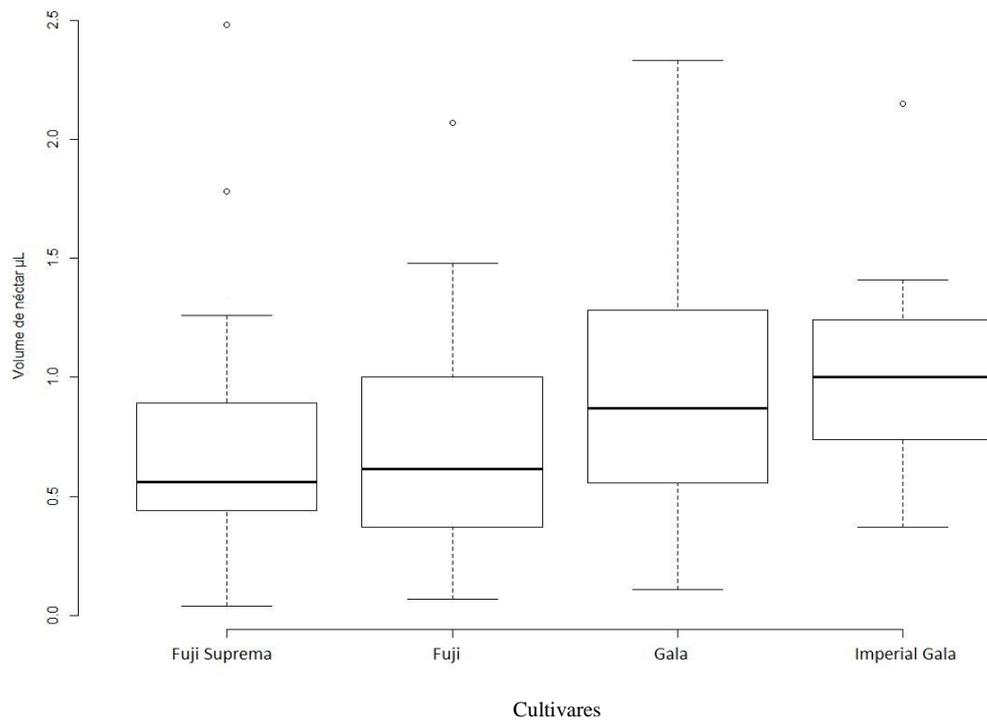


Figura 1: Volume de néctar ( $\mu\text{L}$ ) em flores de macieiras de quatro cultivares na Estação Experimental da Epagri, em São Joaquim, Santa Catarina.

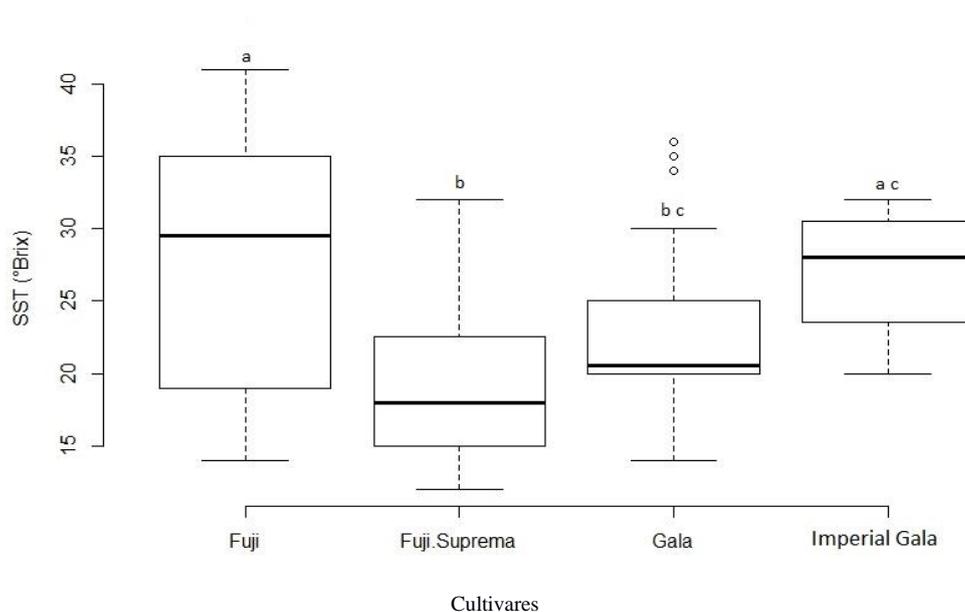


Figura 2: Concentração de Sólidos Solúveis Totais (SST) no néctar de flores de quatro cultivares de macieiras na Estação Experimental da Epagri, em São Joaquim, Santa Catarina.

Verificamos que o número médio de anteras por flor não diferiu significativamente (Tabela 2) (Tukey  $p > 0,05$ ). Entretanto o número médio de grãos de pólen por antera (Tabela 2), bem como a produção de grãos de pólen por flor das cultivares estudadas diferiu significativamente (Material Suplementar 3) (Tukey  $p < 0,05$ ) (Figura 3).

Tabela 2: Produção média de grãos de pólen por antera e número médio de anteras por flor (média  $\pm$  desvio padrão) das cultivares ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’.

	Fuji	Fuji Suprema	Gala	Imperial Gala
Nº médio de anteras/flor	18,3 $\pm$ 1,3 ns	18,4 $\pm$ 1,9 ns	18,6 $\pm$ 1,5 ns	18,2 $\pm$ 1,1 ns
Nº médio de grãos de pólen/antera	3.874 $\pm$ 678 a	2.700 $\pm$ 2.842 b c	4.511 $\pm$ 788 b	5.027 $\pm$ 1.176 c

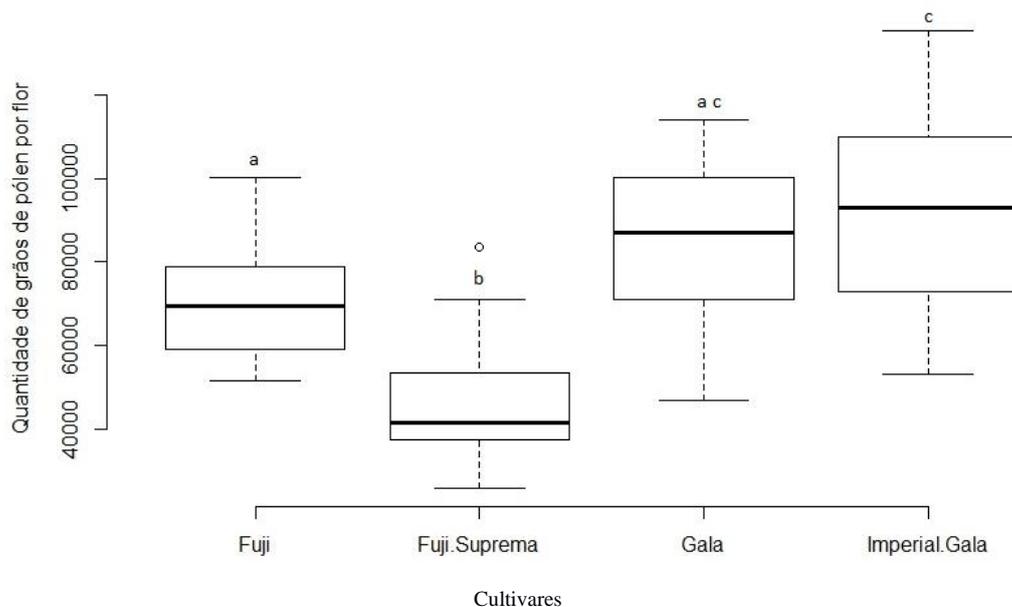


Figura 3: Número de grãos de pólen produzidos em flores de quatro cultivares de macieiras na Estação Experimental da Epagri, em São Joaquim, Santa Catarina.

As flores de ‘Gala’ foram mais atrativas quando comparadas as flores de ‘Fuji’ tendo recebido maior número de operárias de *Apis mellifera*, bem como maior número de visitas por flor (Figura 4) essa diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

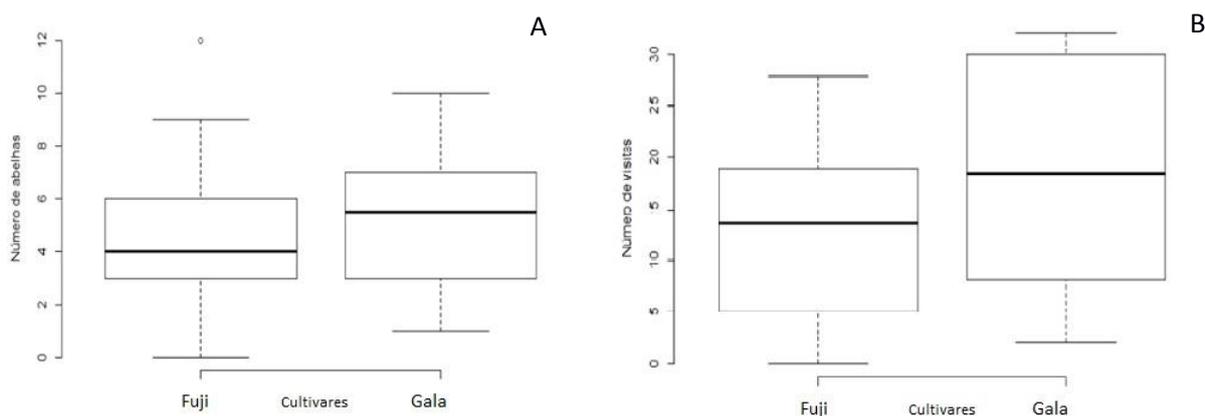


Figura 4: Número de abelhas (A) e número de visitas de *Apis mellifera* (B) observadas nas flores das cultivares ‘Fuji’ e ‘Gala’, em um intervalo de 10 minutos, em um pomar da Estação Experimental da Epagri, em São Joaquim, Santa Catarina.

## DISCUSSÃO

A partir dos dados de abundância floral das cultivares observamos que ‘Fuji Suprema’ apresentou  $3.475 \pm 803$  flores/árvore. Este valor diverge do encontrado por Salomé (2014) para a mesma cultivar ( $990,8 \pm 390,92$ ). Ainda sobre a abundância de flores, verificamos que ‘Fuji’ diferiu de todas as outras cultivares (‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’) e estas por sua vez não diferiram entre si, sendo ‘Imperial Gala’ a cultivar que apresentou mais flores por árvore ( $3.563 \pm 700$ ) (Tabela 1). É importante estimar a quantidade disponível de flores por cultivar para verificarmos se as cultivares que disponibilizam mais flores são mais atrativas aos polinizadores.

O volume de néctar e a concentração de Sólidos Solúveis Totais (SST) também são fatores importantes para a atração de polinizadores (Jakobsen & Kristjánsson, 1994). Em um estudo realizado com duas cultivares de macieiras, em Bom Retiro (Santa Catarina), Salomé (2014) verificou que o volume médio de néctar potencial produzido pelas flores variou em uma amplitude entre  $1,49 \pm 0,30 \mu\text{l}$  e  $2,64 \pm 0,15 \mu\text{l}$  em ‘Galaxy’ e de  $1,34 \pm 0,26 \mu\text{l}$  e  $1,79 \pm 0,49 \mu\text{l}$  em ‘Fuji Suprema’, e não houve diferença significativa entre as cultivares. Neste estudo também não houve diferença significativa entre as cultivares. ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’ produziram volumes semelhantes de néctar. (Figura 1). Em contrapartida, as cultivares ‘Fuji’ e ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Fuji Suprema’ e ‘Imperial Gala’ e ‘Fuji Suprema’ diferiram significativamente quanto à concentração de SST no néctar (Figura 2). A cultivar ‘Fuji’ foi a que apresentou os maiores valores absolutos para a concentração de SST no néctar ( $35^\circ\text{Brix}$ ) em relação às demais cultivares, enquanto ‘Fuji Suprema’ apresentou os menores valores ( $15^\circ\text{Brix}$ ). Benedek e Finta (2006) avaliaram a concentração de SST em néctares de duas cultivares ‘Jonagold’ e ‘Golden Spur’ e encontraram diferença significativa entre elas. As flores da primeira cultivar apresentaram

25,1% de concentração de açúcares, enquanto a segunda apresentou 49,5% de açúcares em seu néctar. Salomé (2014) também encontrou diferença na concentração de SST entre as cultivares ‘Galaxy’ e ‘Fuji Suprema’, sendo a última a que apresentou as menores concentrações. Os dois estudos mencionados registram uma relação negativa entre o volume de néctar e a concentração de açúcares nele contido. Neste estudo, por sua vez, não encontramos correlação significativa entre o volume de néctar e a concentração de SST das cultivares amostradas.

Quanto à produção de grãos de pólen por flor, as cultivares diferiram significativamente (Figura 3). ‘Imperial Gala’ ( $91.356 \pm 22.039$ ) e ‘Gala’ ( $84.768 \pm 18.715$ ) foram as cultivares que apresentaram maior número de grãos de pólen por flor, bem como maior número médio de grãos de pólen por antera (Tabela 1). Neste estudo, ‘Fuji Suprema’ apresentou  $46.988 \pm 18.263$  grãos de pólen por flor, valor maior que a quantidade encontrada por Salomé (2014) para esta mesma cultivar ( $26.544 \pm 11.050$ ).

Segundo Petri *et al.* (2006) as cultivares com menor necessidade de frio, geralmente, produzem maior número de grãos de pólen por antera quando comparadas as cultivares de maiores exigências de frio. Nossos resultados apóiam esse pressuposto, visto que a cultivar ‘Gala’ que apresentou em média  $4.511 (\pm 788)$  grãos de pólen por antera necessita em média de 600 horas frio (HF), enquanto a cultivar ‘Fuji’, a qual apresentou em média  $3.874 (\pm 678)$  grãos de pólen por antera, necessita entre 700 a 800 HF para a quebra de dormência dos botões florais (Petri *et al.*, 2006).

Em experimento realizado no município de Caçador, SC, Faoro e colaboradores (2013) verificaram que a cultivar ‘Gala’ apresentou em média 17,2 anteras por flor e ‘Fuji’ apresentou em média 17,6 anteras por flor. Albuquerque Júnior e colaboradores (2010) encontraram a média de 20 anteras por flor na cultivar ‘Fuji Suprema’. Neste estudo encontramos valores maiores para ‘Gala’ com  $19 \pm 2$  anteras por flor e para ‘Fuji’ com  $18 \pm 1$

anteras por flor. Em ‘Fuji Suprema’ encontramos valores menores, com  $18 \pm 2$  anteras por flor.

Quanto à atratividade floral verificamos que as flores de ‘Gala’ quando comparadas às flores de ‘Fuji’, em um pomar comercial, receberam mais visitas, bem como maior número de operárias de *Apis mellifera*. Portanto, as plantas da cultivar ‘Gala’ foram mais atrativas às abelhas do que ‘Fuji’. Possivelmente, essa maior atratividade das flores de ‘Gala’ para as abelhas deve-se ao fato desta cultivar apresentar significativamente mais flores por árvore que a cultivar ‘Fuji’, aumentando a oferta de recursos (pólen e néctar) por planta, uma vez que ambos os recursos foram estatisticamente semelhantes entre as cultivares.

Em 1991, Hoffman e Thorp avaliaram os fatores que influenciam os índices de visitação de abelhas em flores de macieiras nos pomares e sugeriram, assim como Jay (1986), que o número de flores por cultivar, a oferta de néctar (volume e SST), além do fácil acesso ao pólen, podem relacionar-se a maior frequência de visitas de abelhas às flores.

Em 1992, Abrol avaliou a produção de néctar de treze cultivares de morango, e a relacionou com a atividade de forrageamento de *Apis mellifera* e *Apis cerana*, encontrando uma diferença significativa entre as cultivares quanto à produção de néctar e concentração de açúcares. Com isso, o autor sugeriu que as cultivares que ofertavam maior recompensa energética tiveram uma vantagem competitiva na atração de ambas as espécies de abelhas. Entretanto, não só a recompensa energética pode influenciar na atratividade das flores. Em um estudo realizado no norte de Israel, com as cultivares de macieira ‘Jonathan’ e ‘Topred’, Schneider e colaboradores (2002) verificaram que ambas tiveram semelhantes constituições de néctar, entretanto a cultivar ‘Jonathan’ foi menos atrativa. Os autores sugeriram que a diferença entre as cultivares está relacionada à estrutura floral, visto que as flores da cultivar ‘Troped’ são maiores, facilitando o acesso para coleta de néctar (Schneider *et al.*, 2002).

O néctar é um importante recurso energético para as abelhas, sendo assim quanto maior a concentração de SST presente nele, maior a recompensa para o visitante floral. Em nosso estudo observamos que, embora a cultivar ‘Fuji’ possua flores com néctar mais concentrado, as operárias de *Apis mellifera* tiveram preferência por coletar os recursos ofertados pelas flores da cultivar ‘Gala’. Provavelmente este fato esteja relacionado à maior abundância floral desta cultivar quando comparada à disponibilidade floral de ‘Fuji’, pois a primeira, embora possua néctar menos concentrado, oferece maior volume, mais flores e, além disso, maior quantidade de grãos de pólen, principal fonte de proteínas para as larvas das abelhas.

A partir dos dados avaliados neste trabalho é possível inferirmos qual cultivar entre ‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’ pode ter maior potencial atrativo para os polinizadores no que tange a abundância floral e os recursos florais. Sob esses critérios a cultivar ‘Imperial Gala’ apresentou o maior potencial na atração de polinizadores, visto que esta cultivar apresentou maior abundância floral, volume de néctar e quantidade de grãos de pólen por flor.

## **CONCLUSÃO**

As flores de macieira da cultivar ‘Gala’ foram mais atrativas para as abelhas *Apis mellifera* do que as da cultivar ‘Fuji’. Embora com menor concentração de SST no néctar ‘Gala’ apresentou maior oferta de recursos florais aos polinizadores (abundância de flores, volume de néctar e grãos de pólen por flor).

Com estes resultados, os produtores de maçã podem selecionar as cultivares que serão plantadas e a proporção de cada uma levando em consideração os recursos florais e abundância floral de cada cultivar. Estes fatores repercutirão na atratividade floral de

macieira, e no desempenho de polinização de *Apis mellifera*, estando este processo relacionado diretamente ao aumento da produção e qualidade dos frutos do pomar.

## **AGRADECIMENTOS**

À CAPES pela bolsa de estudos concedida. À EPAGRI, especialmente ao pesquisador Drº. Cristiano Arioli e ao Me. Joatan Machado, pelo apoio no campo.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Abrol, D.P., 1992. Energetics of nectar production in some strawberry cultivars as a predictor of floral choice by honey bees. *Journal of Biosciences*. 17, 41-44.

Albuquerque Júnior, C.L., Denardi, f., Dantas, A.C.M., Nodari, R., 2010. O desenvolvimento de tubos polínicos em cruzamentos entre cultivares brasileiras de macieira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 45, 1324-1327.

Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker S., 2015. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. (R package version 1.1-9). Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=lme4>

Benedek, P., Finta, K., 2006. The effect of nectar production to the gathering behavior of honey bees and to the foraging activity of wild bees at apple flowers. *International Journal of Horticultural Science*. 12, 45-57.

Broothaerts, W., VanNerum, I., Keulemans, J., 2004. Update on and review of the incompatibility (S-) genotypes of apple cultivars. HortScience. 39, 943-947.

Carrillo, J.L.R., Ríos, P.C., 2014. Manual de polinización apícola. Secretaria de Agricultura, ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Saltillo. México. s/d. 52 p. Disponivel em:

<<http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20apcolas/Attachments/4/manpoli.pdf>>.

Dafni, A., 1992. Pollination ecology: A practical approach. Oxford Universty Press, New York, USA.

Dag, A., Afik, O., Stern, R.A., Shafir, S., 2012. Selection and breeding of honey bee strains for pollination of tree crops. Proceedings of the 1st Api Eco Flora Symposium, San Marino, 15.

Faoro, I.D., Schwartz, M.L., Fagundes, E., Yoshida, H.T., 2013. Quantidade e qualidade do pólen e do néctar em flores de macieira cvs. Gala e Fuji, em diferentes fases florais (3 F x). Anais do XIII ENFRUTE. Vol. II – Resumos. EPAGRI, pp. 136.

Farkas, Á., Orosz-Kovács, Z., Szabo, L.G., Bubán, T., 2000. Floral attractivity of pear cultivar ‘Cinderi’. International Journal Horticulture Science. 6, 102-109.

Free, J. B., 1993. Insect pollination of crops. 2.ed. London: Academic Press.

Freitas, B.M., Nunes-Silva, P., 2012. Polinização agrícola e sua importância no Brasil. In: Imperatriz-Fonseca, V., Canhos, D.A.L., Alves, D.A., Saraiva, A.M. (Eds.) Polinizadores no Brasil - contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais. EDUSP, São Paulo, pp.103-118.

Hoffman, G.G., Thorp, R., 1991. The influence of nectar and pollen availability and blossom density on the attractiveness of almond cultivars to honeybees. *Acta Horticulturae*. 288, 299-302.

Hoffman, A., Bernardi, J., 2004. Maçã, produção. Série Frutas do Brasil, Embrapa Uva e Vinho, Brasília.

Jay, S.C., 1986. Spatial management of honeybees on crops. *Annual Review of Entomology*. 31, 49-65.

Jakobsen, H.B., Kristjánsson, K., 1994. Influence of temperature and floret age on nectar secretion in *Trifolium repens* L. *Annals of Botany*. 74, 327-334.

Kvitschal, M.V., Denardi, F., Schuh, F.S., Manenti, D.C., 2013. Identificação de polinizadoras para a cultivar de macieira Daiane. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 35, 9-14.

Labare, K.M., Broyles, S.B., Klotz, R.L., 2000. Exploring nectar biology to learn about pollinators. *The American Biology Teacher*. 62, 292-296.

Mcgregor, S.E., 1976. Insect pollination of cultivated crop plants. Washington: Agriculture Research Service Department.

R Core Team R: A language and environment for statistical computing. The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2015. Disponível em: <http://www.R-project.org/>

Salomé, J.A., 2014. Polinização dirigida em pomares de macieiras (*Malus domestica* Borkh) com o uso de colmeias de *Apis mellifera* L. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina.

Sheffield, C.S., Kevan, P.G., Pindar, A., Packer, L., 2013. Bee (Hymenoptera: Apoidea) diversity within apple orchards and old fields in the Annapolis Valley, Nova Scotia, Canada. *The Canadian Entomologist*. 145, 94-114.

Schneider, D., Stern, R.A., Eisikowitch, D., Goldway, M., 2002. The relationship between floral structure and honey bees pollination efficiency in 'Jonathan' and 'Topred' apple cultivars. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 77, 48-51.

Schulte, F., Lingott, J., Panne, U., Kneipp, J., 2008. Chemical characterization and classification of pollen. *Analytical Chemistry*. 80, 9551-9556.

Stern, R.A., Eisikowitch, D., Dag, A., 2001. Sequential introduction of honey bee colonies and doubling their density increase cross-pollination, fruit set and yield in 'Red Delicious' apple. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 76, 17-23.

Petri, J.L., Palladini, L.A., Pola, A.C., 2006. Dormência e indução da macieira. In: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. A cultura da macieira. Florianópolis, pp. 261-268.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

- 1) Comparação entre as cultivares quanto ao volume de néctar das flores e sua respectiva significância.

diff	lwr	upr	p	adj
Fuji-F.Suprema	0.46692593	-0.120238759	1.0540906	0.1666701
Gala-F.Suprema	0.45365320	-0.117973751	1.0252801	0.1680625
Imp.Gala-F.Suprema	0.59192593	0.004761241	1.1790906	0.0474101
Gala-Fuji	-0.01327273	-0.628175123	0.6016297	0.9999345
Imp.Gala-Fuji	0.12500000	-0.504372667	0.7543727	0.9539514
Imp.Gala-Gala	0.13827273	-0.476629668	0.7531751	0.9350624

- 2) Comparação entre as cultivares quanto ao teor de SST nas flores e sua respectiva significância.

diff	lwr	upr	p	adj
Fuji.Suprema-Fuji	-9.370370	-14.1858772	-4.5548635	0.0000123
Gala-Fuji	-5.535354	-10.5649864	-0.5057207	0.0251729
Imp.Gala-Fuji	-1.344444	-6.4859988	3.7971099	0.9023210
Gala-Fuji.Suprema	3.835017	-0.7102428	8.3802765	0.1284065
Imp.Gala-Fuji.Suprema	8.025926	3.3571188	12.6947330	0.0001240
Imp.Gala-Gala	4.190909	-0.6984529	9.0802710	0.1191648

- 3) Comparação entre as cultivares quanto a quantidade de grãos de pólen/flor e sua respectiva significância.

diff	lwr	upr	p	adj
Fuji.Suprema-Fuji	-23691.368	-38733.1043	-8649.633	0.0005159
Gala-Fuji	14088.750	-758.8909	28936.391	0.0691517
Imperial.Gala-Fuji	20676.562	5828.9216	35524.203	0.0025877
Gala-Fuji.Suprema	37780.118	22738.3825	52821.854	0.0000000
Imperial.Gala-Fuji.Suprema	44367.931	29326.1950	59409.667	0.0000000
Imperial.Gala-Gala	6587.812	-8259.8284	21435.453	0.6500972

- 4) Significância dos dados comparados no modelo linear generalizado misto.

Fixed effects:				
	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	0.31453	0.54255	0.580	0.5621
Flores	0.025140	0.01142	2.202	0.0277 *
Abelhas	0.169280	0.01917	8.829	<2e-16 ***

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo da macieira é uma atividade crescente no Brasil. Como muitas cultivares possuem alto grau de incompatibilidade torna-se essencial a presença de insetos que realizaram a polinização cruzada. As abelhas são consideradas os principais polinizadores desta cultura, sendo comum o uso de colônias de *Apis mellifera* nos pomares.

Neste trabalho, verificamos que apesar de as colônias de *Apis mellifera* serem comumente utilizadas nos pomares de macieiras, esta espécie não é um eficiente agente polinizador da cultura nas condições observadas. A preferência de *Apis mellifera* pela coleta de néctar pode influenciar na sua eficiência de polinização, posto que as abelhas coletoras de néctar podem obter este recurso por um posicionamento lateral na flor, não tocando os estigmas florais. Sendo assim, a polinização eficaz da macieira será possível a partir da visita legítima de *Apis mellifera* na coleta de pólen, a qual toca 100% dos órgãos sexuais da flor.

Outro achado deste trabalho foi em relação à eficiência do sistema de plantio para a polinização, sendo mais adequado o sistema de plantio com floríferas, o qual consiste em plantar a cultivar de interesse comercial (produtora) em linhas intercaladas com árvores floríferas, visto que o comportamento de forrageio majoritário de *Apis mellifera* é em linha, ou seja, sem cruzar entre as cultivares dos pomares.

Além de conhecer o sistema de plantio mais eficiente para o comportamento de forrageio de *Apis mellifera*, também é fundamental conhecer a atratividade floral das cultivares mais plantadas comercialmente para as abelhas, a fim de contribuir para a qualificação da produção de maçãs no Brasil.

Ao analisarmos a atratividade floral das cultivares ‘Fuji’ e ‘Gala’ para as operárias de *Apis mellifera* verificamos que a cultivar ‘Gala’ foi mais atrativa para as abelhas. Esta cultivar apresentou maior abundância de flores, maior volume de néctar e maior quantidade de grãos

de pólen por flor quando comparada a cultivar ‘Fuji’. No entanto, quando comparamos os recursos florais de todas as cultivares analisadas (‘Fuji’, ‘Fuji Suprema’, ‘Gala’ e ‘Imperial Gala’), verificamos que a ‘Imperial Gala’ é potencialmente mais atrativa para as abelhas do que a ‘Gala’, assim como a cultivar ‘Fuji’ é mais atrativa que a ‘Fuji Suprema’.

Este trabalho buscou subsidiar um cenário para a produção de maçãs mais eficiente no que tange a polinização de *Apis mellifera*. Deste modo, é fundamental conhecermos a atratividade floral das cultivares de macieira para as abelhas, bem como o comportamento de forrageamento destas nas flores de macieira para o melhor manejo dos pomares comerciais de maçã e eficiência da polinização.

## 5. APÊNDICE

### **Normas da Revista “Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)”**

#### Escopo e política editorial

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor.

#### Análise dos artigos

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

#### Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

- São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

Informações necessárias na submissão on-line de trabalhos

No passo 1 da submissão (Início), em “comentários ao editor”, informar a relevância e o aspecto inédito do trabalho.

No passo 2 da submissão (Transferência do manuscrito), carregar o trabalho completo em arquivo Microsoft Word.

No passo 3 da submissão (Inclusão de metadados), em “resumo da biografia” de cada autor, informar o link do sistema de currículos lattes (ex.: <http://lattes.cnpq.br/0577680271652459>).

Clicar em “incluir autor” para inserir todos os coautores do trabalho, na ordem de autoria.

Ainda no passo 3, copiar e colar o título, resumo e termos para indexação (keywords) do trabalho nos respectivos campos do sistema.

No passo 4 da submissão (Transferência de documentos suplementares), carregar, no sistema on-line da revista PAB, um arquivo Word com todas as cartas (mensagens) de concordância dos coautores coladas conforme as explicações abaixo:

- Colar um e-mail no arquivo word de cada coautor de concordância com o seguinte conteúdo:

“Eu, ..., concordo com o conteúdo do trabalho intitulado “.....” e com a submissão para a publicação na revista PAB.

Como fazer:

Peça ao coautor que lhe envie um e-mail de concordância, encaminhe-o para o seu próprio e-mail (assim gerará os dados da mensagem original: assunto, data, de e para), marque todo o email e copie e depois cole no arquivo word. Assim, teremos todas as cartas de concordâncias dos co-autores num mesmo arquivo.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

#### Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

#### Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.

- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

### Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

### Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

### Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no [AGROVOC: MultilingualAgricultural Thesaurus](#) ou no [Índice de Assuntos da base SciELO](#).

### Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do

### Resumo.

## Material e Métodos

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

## Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

## Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

#### Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

#### Referências

- A palavra Referências deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

#### Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. Anais.Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

- Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). *O agronegócio da mamona no Brasil*. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

- Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. *Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil*. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. *Sistemas de produção*, 6).

- Teses

HAMADA, E. *Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR*. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. *Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003*. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. *Documentos*, 66). Disponível em: . Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Redação das citações dentro de parênteses

- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.

- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.

- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada.
- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.
- Redação das citações fora de parênteses
- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

#### Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.
- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

#### Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.
- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.

- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.
- Notas de rodapé das tabelas
- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); \* e \*\* (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

#### Figuras

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.

- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias

## Normas de submissão da Revista “SCIENTIA HORTICULTURAE”

### Article structure Subdivision -numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

### Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

### Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described. Results should be clear and concise.

**Discussion** This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Results and Discussion should be two separate sections.

**Conclusions** The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section. **Appendices**

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

#### Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes. Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately

from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

### Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of  $531 \times 1328$  pixels (h  $\times$  w) or proportionally more. The image should be readable at a size of  $5 \times 13$  cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <https://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

### Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <https://www.elsevier.com/highlights> for examples.

### Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

#### Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article. Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

#### Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI. Authors and Editor(s) are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified. For

chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed. Math formulae Present simple formulae in the line of normal text where possible. In principle, variables are to be presented in italics. Number consecutively any equations that have to be displayed separate from the text (if referred to explicitly in the text). Subscripts and superscripts should be clear. Greek letters and other non-Roman or handwritten symbols should be explained in the margin where they are first used. Take special care to show clearly the difference between zero (0) and the letter O, and between one (1) and the letter l. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Also powers of e are often more conveniently denoted by exp. Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are: \* $\leq$ ,\*\*P

## Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

## References

Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'.

Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles (<http://citationstyles.org>), such as Mendeley (<http://www.mendeley.com/features/reference-manager>) and Zotero (<https://www.zotero.org/>), as well as EndNote (<http://endnote.com/downloads/styles>). Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate

journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/scientia-horticulturae> When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

### Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

### Reference style Text:

All citations in the text should refer to: 1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication; 2. Two authors: both authors' names and the year of publication; 3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown ....' List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication: Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. Reference to a book: Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book: Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13.03.03). Journal abbreviations source Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-Itwa/>.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article.

This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

#### AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <https://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper. Supplementary material Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there

is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process, then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version. Please also make sure to switch off the 'Track Changes' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Database linking Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving readers access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <https://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases. Interactive plots This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. For instructions please go to <https://www.elsevier.com/interactiveplots>.