

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BIOLOGIA FLORAL E POLINIZAÇÃO EM CANOLA  
(*Brassica napus* L.) POR ABELHAS AFRICANIZADAS  
(HYMENOPTERA: APIDAE) EM DUAS  
ÉPOCAS DE SEMEADURA

Autor: Emerson Dechechi Chambó  
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
maio - 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BIOLOGIA FLORAL E POLINIZAÇÃO EM CANOLA  
(*Brassica napus* L.) POR ABELHAS AFRICANIZADAS  
(HYMENOPTERA: APIDAE) EM DUAS  
ÉPOCAS DE SEMEADURA

Autor: Emerson Dechechi Chambó

Orientador: Professor Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Cláudia Colla Ruvolo-Takasusuki

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
maio - 2013

### Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C446b	<p>Chambó, Emerson Dechechi</p> <p>Biologia floral e polinização em canola (<i>Brassica napus</i> L.) por abelhas afrizanizadas (Hymenoptera: Apidae) em duas épocas de semeadura / Emerson Dechechi Chambó. -- Maringá, 2013.</p> <p>86 f. : il. algumas color.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo.</p> <p>Co-orientador: Profa. Dra. Maria Cláudia Colla Ruvolo-Takasusuki.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2013.</p> <p>1. Polinização - Produção de canola. 2. Biologia - Canola - Comportamento de abelha. 3. Híbridos de canola. 4. Sistema reprodutivo. 5. Modelos lineares generalizados. I. Toledo, Vagner de Alencar Arnaut de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.</p> <p>CDD 22.ed. 638.1</p>
-------	---



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**BIOLOGIA FLORAL E POLINIZAÇÃO EM CANOLA  
(*Brassica napus* L.) POR ABELHAS AFRICANIZADAS  
(HYMENOPTERA: APIDAE) EM DUAS  
ÉPOCAS DE SEMEADURA**

Autor: Emerson Dechechi Chambó  
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 03 de maio de 2013.

Prof. Dr. Carlos Antonio  
Lopes de Oliveira

Profª Drª Darcllet Teresinha  
Malerbo-Souza

Prof. Dr. Luis Carlos Marchini

Prof. Dr. Newton Tavares  
Escocard de Oliveira

Prof. Dr. Vagner de Alencar  
Arnaud de Toledo  
(Orientador)

"Idealização da humanidade futura

Rugia nos meus centros cerebrais  
A multidão dos séculos futuros  
Homens que a herança de ímpetos impuros  
Tomara etnicamente irracionais!

Não sei que livro, em letras garrafais,  
Meus olhos liam! No húmus dos monturos,  
Realizavam-se os partos mais obscuros,  
Dentre as genealogias animais!

Como quem esmigalha protozoários  
Meti todos os dedos mercenários  
Na consciência daquela multidão...

E, em vez de achar a luz que os Céus inflama,  
Somente achei moléculas de lama  
E a mosca alegre da putrefação!"

*Augusto dos Anjos*

Aos meus pais ,**Walter Neto Chambó** e **Cleusa Dechechi Chambó**.  
À minha querida namorada, Aline Piaia, pela motivação em todos os momentos da  
realização deste estudo.

**DEDICO...**

## AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Reverencio o Professor Dr Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, pela sua dedicação, comprometimento, amizade e orientação, sem o que seria impossível a realização deste estudo e, por meio dele, eu me reporto a toda a comunidade da Universidade Estadual de Maringá - UEM e, em especial ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UEM, pela oportunidade que me foi dada.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, por fornecer estrutura física, recursos humanos capacitados e pelo apoio incondicional em todas as etapas da minha vida acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo, que me possibilitou a realização deste trabalho.

Aos professores e amigos: Dr<sup>a</sup>. Regina Conceição Garcia, Newton Tavares Escocard de Oliveira e José Barbosa Duarte-Júnior, pelos momentos de aprendizado, orientações, incentivo a pesquisa e pela grande amizade.

À minha co-orientadora professora Dr<sup>a</sup>. Maria Cláudia Colla Ruvolo-Takasusuki, pela atenção e contribuição dedicadas a este trabalho.

Aos funcionários da Fazenda Experimental, Antônio Carlos dos Santos Pessoa, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em especial ao Sr. Alceu Hartleblen, o qual colaborou com suas colônias de abelhas e aos Srs. Jonas Winter, Cláudio Kister e Marcelo Júnior Lang, pela prestação de serviço em relação à instalação e manutenção do experimento.

Aos colegas de trabalho gostaria de externar minha satisfação de poder conviver com eles durante a realização deste estudo.

À Claudia Piaia Sechler e Jared Sechler, pela tradução para o inglês dos resumos do trabalho.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer esse desafio. E por último, e nem por isso menos importante, agradeço a minha querida namorada ,Aline Piaia, pela motivação nos momentos mais difíceis ao longo desta trajetória, com certeza suas palavras foram inspiratórias e me proporcionaram todo o meu desejo de realizar esta pesquisa.



## BIOGRAFIA

EMERSON DECHECHI CHAMBÓ, filho de Walter Neto Chambó e Cleusa Dechechi Chambó, nasceu em Assis Chateaubriand - PR, no dia 17 de fevereiro de 1983.

Em março de 2006, concluiu a graduação em Ciências Biológicas, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste.

Em abril de 2008, obteve o título de especialista em Ecologia e Educação Ambiental pela Universidade Paranaense - Unipar.

Em março de 2008, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado – Área de Concentração Produção e Nutrição Animal na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, obtendo o título de Mestre em Zootecnia em março de 2010.

Em setembro de 2009, foi aprovado em teste seletivo para professor temporário na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, onde exerceu a função de professor do curso de Zootecnia até dezembro de 2010.

Em março de 2010, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível Doutorado – Área de Concentração Produção Animal na Universidade Estadual de Maringá.

Em agosto de 2012, foi aprovado novamente em teste seletivo para professor temporário na Unioeste, onde exerce a função de professor do curso de Zootecnia e Agronomia.

No mês de fevereiro de 2013, submeteu-se ao exame geral de qualificação.

No mês de maio de 2013 submeteu-se à defesa da tese.

## ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	xi
RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
I – INTRODUÇÃO GERAL .....	1
1.1 Histórico e origem botânica .....	1
1.2 Aspectos da biologia floral .....	2
1.3 Exigências de polinização em canola .....	4
1.4 Impacto da polinização mediada por abelhas em <i>B. napus</i> .....	7
1.5 Situação e aspectos econômicos .....	8
Referências Citadas .....	11
II – OBJETIVOS GERAIS .....	14
III – POLINIZAÇÃO DE HÍBRIDOS DE CANOLA ( <i>Brassica napus</i> L.) POR ABELHAS AFRICANIZADAS (HYMENOPTERA: APIDAE) EM DUAS ÉPOCAS DE SEMEADURA .....	15
Resumo .....	15
Abstract .....	15
Introdução .....	17
Material e Métodos .....	18
Resultados .....	21
Discussão .....	24
Referências Citadas .....	28

IV – BIOLOGIA FLORAL E ASPECTOS REPRODUTIVOS EM CANOLA ( <i>Brassica napus</i> L.) .....	40
Resumo .....	40
Abstract .....	40
Introdução .....	42
Material e Métodos .....	43
Material Vegetal e Local do Estudo .....	43
O Estudo da Morfologia e Biologia Floral .....	44
Razão Semente por Óvulo .....	46
Resultados .....	47
Morfologia e Biologia Floral .....	47
Discussão .....	50
Referências Citadas .....	53
V – PADRÃO COMPORTAMENTAL DE INSETOS EM <i>Brassica napus</i> L. EM RESPOSTA AOS FATORES CLIMÁTICOS .....	63
Resumo .....	63
Abstract .....	63
Introdução .....	65
Material e Métodos .....	66
Frequência dos Visitantes Florais .....	66
Procedimentos Estatísticos .....	67
Resultados .....	68
Discussão .....	71
Referências Citadas .....	76
VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	85

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
<b>III – POLINIZAÇÃO DE HÍBRIDOS DE CANOLA (<i>Brassica napus</i> L.) POR ABELHAS AFRICANIZADAS (HYMENOPTERA: APIDAE) EM DUAS ÉPOCAS DE SEMEADURA</b>	
Tabela 1. Resumo da probabilidade de significância da análise de variância inicial para cada variável resposta analisada .....	36
Tabela 2. Valores médios e desvios-padrão de massa de grãos por planta (MGP) e massa de grãos por siliqua (MGS) por combinação entre polinização, híbrido e época de semeadura, em Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil .....	37
Tabela 3. Valores médios e desvios-padrão do número de grãos por siliqua, rendimento de grãos e massa de 1.000 grãos por combinação entre testes de polinização e época de semeadura, em Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil .....	38
Tabela 4. Valores de F com a probabilidade, médias e seus respectivos desvios-padrão de número de grãos por siliqua (NGS), número de síliquas por planta (NSP), teor de óleo (TO), vigor (VG), germinação (GER) e massa de 1.000 grãos (MMG) por combinação entre híbridos de canola e época de semeadura, em Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasi .....	39
<b>IV – BIOLOGIA FLORAL E ASPECTOS REPRODUTIVOS EM CANOLA (<i>Brassica napus</i> L.)</b>	
Tabela 1. Estádios florais e intervalos de confiança da média populacional das estruturas reprodutivas em <i>B. napus</i> , Marechal Candido Rondon, Paraná, Brasil .....	59
Tabela 2. Valores médios da germinabilidade do pólen <i>in vitro</i> , viabilidade do pólen e receptividade do estigma em <i>Brassica napus</i> por grupo experimental, e probabilidade de significância dos contrastes .....	60

Tabela 3.	Médias e seus respectivos desvios-padrão da razão sementes por óvulos por combinação entre testes de polinização e épocas de semeadura em <i>Brassica napus</i> , no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil .....	61
Tabela 4.	Médias e seus respectivos desvios-padrão da razão sementes por óvulos por combinação entre híbridos de canola e épocas de semeadura em <i>Brassica napus</i> , no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil .....	62
<b>V – PADRÃO COMPORTAMENTAL DE INSETOS EM <i>Brassica napus</i> L. EM RESPOSTA AOS FATORES CLIMÁTICOS</b>		
Tabela 1.	Valores das estatísticas calculadas de Shapiro-Wilk (W) e Kolmogorov-Smirnov (d) .....	81
Tabela 2.	Resultados dos valores da “escaled deviance” para mensurar a qualidade do ajuste dos modelos lineares generalizados .....	82
Tabela 3.	Análise das estimativas dos parâmetros dos modelos estimados e nível descritivo .....	83
Tabela 4.	Equações de regressão estimadas por meio dos modelos lineares generalizados para cada híbrido de canola .....	84

## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
<b>I – INTRODUÇÃO GERAL</b>	
Figura 1. Triângulo de Nagaharu U ilustrando as relações genômicas entre as espécies de <i>Brassica</i> . O genoma haploide das espécies diploides de <i>B. rapa</i> , <i>B. nigra</i> e <i>B. oleracea</i> são referidos como A, B e C, respectivamente .....	2
<b>III – POLINIZAÇÃO DE HÍBRIDOS DE CANOLA (<i>Brassica napus</i> L.) POR ABELHAS AFRICANIZADAS (HYMENOPTERA: APIDAE) EM DUAS ÉPOCAS DE SEMEADURA</b>	
Figura 1. Dados meteorológicos referentes ao período de maio/2011 a outubro/2011 na área experimental no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. (a) UR (%) - umidade relativa, Temperatura máxima, mínima e média (°C). (b) Precipitação (mm) e Radiação solar (kJ. m <sup>2</sup> ) .....	32
Figura 2. Área experimental com as gaiolas de polinização .....	33
Figura 3. Massa de grãos por planta (g) de híbridos de canola em resposta às épocas de semeadura e testes de polinização. As letras minúsculas diferentes em cada teste de polinização diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ ) .....	34
Figura 4. Número de síliquas por planta entre teste de polinização e híbrido, independentemente de época de semeadura. Colunas seguidas por letras minúsculas diferentes entre híbridos em cada teste de polinização diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ ). Colunas seguidas por letras maiúsculas diferentes entre os testes de polinização em cada híbrido diferem pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ) .....	35

#### IV – BIOLOGIA FLORAL E ASPECTOS REPRODUTIVOS EM CANOLA (*Brassica napus* L.)

Figura 1.	Comprimentos das estruturas masculinas e femininas de flores de canola em função da idade da flor em horas .....	56
Figura 2.	Receptividade do estigma em função da idade (horas) da flor de canola .....	57
Figura 3.	Grãos de pólen de <i>B. napus</i> e reação do peróxido de hidrogênio com os estigmas. (a) grão de pólen em contraste com o corante carmim acético, (b) grão de pólen no meio de cultura (seta indica o tubo polínico germinado) e (c) Estigmas receptivos (a seta no estigma indica o desprendimento de bolhas, que é indicativo de sua receptividade) .....	58

#### V – PADRÃO COMPORTAMENTAL DE INSETOS EM *Brassica napus* L. EM RESPOSTA AOS FATORES CLIMÁTICOS

Figura 1.	Gráfico de superfície de resposta dos efeitos de horário do dia e temperatura em função do número de abelhas <i>A. mellifera</i> coletoras de néctar no híbrido Hyola 433 .....	79
Figura 2.	Gráfico de superfície de resposta dos efeitos de horário do dia e temperatura em função do número de abelhas <i>A. mellifera</i> coletoras de néctar no híbrido Hyola 61 .....	80

## RESUMO

Os trabalhos foram realizados objetivando-se avaliar a polinização por abelhas *Apis mellifera* africanizadas sobre a produção e qualidade das sementes na canola (*Brassica napus* L.), híbridos Hyola 61 e 433, semeados em duas épocas, a biologia floral e a fertilidade feminina, bem como determinar quais são os visitantes florais e os seus padrões de forrageamento às flores em relação a variáveis meteorológicas específicas. No primeiro trabalho os tratamentos foram constituídos pela combinação de dois híbridos de canola (Hyola 61 e Hyola 433), três testes de polinização (área descoberta, área coberta sem insetos e área coberta com uma colônia de *A. mellifera* africanizada) e duas épocas de semeadura (25/05/2011 e 25/06/2011). As variáveis analisadas foram rendimento de grãos, massa de grãos por planta e de grãos por siliqua, número de grãos por siliqua e de síliquas por planta, massa de mil grãos, vigor, germinação e teor de óleo em sementes. No segundo trabalho analisou-se a morfologia floral, receptividade do estigma, viabilidade e a germinabilidade do pólen, áreas de emissão de odor e a constância das abelhas africanizadas às flores, bem como a fertilidade feminina, que foi estudada considerando as duas épocas de semeadura. No terceiro trabalho verificou-se a frequência dos visitantes florais, por meio da observação do comportamento nos dez primeiros minutos de cada horário, das 8h às 17h, permanecendo um minuto na frente de cada planta marcada. Em cada sessão de análise foi anotado o número de visitas de cada polinizador às flores de canola e os recursos coletados pelas abelhas africanizadas, bem como o número de flores visitadas por *A. mellifera* em um minuto, número de flores visitadas por *A. mellifera* em uma única planta em um minuto e o tempo de visita de *A. mellifera* na flor. Nesse trabalho as análises foram realizadas por meio dos modelos lineares generalizados. A produção em canola pode ser aumentada em termos de seus componentes produtivos com a presença de abelhas africanizadas durante a



floração. Os híbridos podem ter suas perdas produtivas atenuadas devido à polinização cruzada realizada pelas abelhas africanizadas quando as condições climáticas foram menos propícias para o desenvolvimento da cultura, ou seja, quando semeada em 25/06/2011. A atividade de forrageamento das abelhas africanizadas pode ser limitada em decorrência dos fatores climáticos, ocasionando menor dependência da planta de canola aos potenciais polinizadores, em especial *A. mellifera* africanizada. Os híbridos de canola respondem diferentemente em relação à época de plantio, sendo o híbrido Hyola 433 de ciclo curto o mais indicado quando à semeadura ocorre em condições ambientais menos propícias. As flores da canola são hermafroditas e estão dispostas em inflorescências racemosas, com duração de 48 horas. O ovário possui, em média,  $24,72 \pm 2,8$  óvulos. As pétalas medem  $14,75 \pm 0,96$  mm de comprimento e  $7,81 \pm 0,77$  mm de diâmetro. As flores mais jovens, com idade entre 3 e 9 horas e 24 e 33 horas apresentam grãos de pólen com capacidade de emissão de tubo polínico e receptividade do estigma maior ( $P < 0,05$ ) em relação ao estágio de botão em pré-antese e flores de idade entre 48 e 51 horas. A viabilidade do pólen presente na corbícula das abelhas africanizadas foi de 97%. Osmóforos foram localizados por toda a corola e anteras. A razão semente por óvulo foi 74%. As flores dos híbridos Hyola 61 e 433 são protandricas e possuem mecanismos para ocorrência de alogamia. Os dados obtidos sugerem a ocorrência de um mecanismo reprodutivo misto em *B. napus*, haja vista a ampla flexibilidade reprodutiva da espécie, com uma taxa de desenvolvimento de óvulos em sementes significativo, mesmo na ausência de polinização cruzada. As abelhas africanizadas foram os insetos polinizadores mais abundantes (89%) dentre todos os visitantes florais, sendo as abelhas com comportamento único para coleta de néctar mais frequentes (90%) na cultura. As abelhas africanizadas visitaram  $12,9 \pm 1,40$  flores em um minuto e  $2,96 \pm 1,09$  flores em uma única planta em um minuto. O tempo de permanência dessas abelhas nas flores de canola foi de  $4,2 \pm 1,6$  segundos. A abundância de visitantes florais acompanhou a variação dos fatores abióticos ao longo do dia, principalmente, a temperatura, umidade relativa, velocidade do vento e radiação solar. As abelhas africanizadas foram mais ativas em horas diferentes dos outros polinizadores e forragearam mais intensamente no híbrido Hyola 433 em relação ao Hyola 61, o qual foi mais atrativo aos demais visitantes florais.

**Palavras-chave:** polinizadores, híbrido, sistema reprodutivo, comportamento de insetos, modelos lineares generalizados

## ABSTRACT

The objectives of the present study are: to evaluate the pollination by Africanized honeybees (*Apis mellifera*) over the production and quality of rapeseed (*Brassica napus* L.) hybrids Hyola 61 and 433 sown on two distinct dates; to evaluate floral biology and female fertility; to determine which insects are pollinators; to identify insect flower foraging patterns in relation to specific meteorological variables. In the first study (conducted in the Western part of the southern state of Paraná, Brazil), the treatments consisted of combinations of two rapeseed hybrids (Hyola 61 and Hyola 433), three pollination tests (uncovered area, covered area without insects, and covered area with an Africanized *A. mellifera* colony) and two different sowing dates (05/25/2011 and 06/25/2011). The variables analyzed were grain yield, grain yield per plant and seeds per pod, number of seeds per pod and pods per plant, thousand grain weight, vigor, germination and oil content in seeds. In the second study we analyzed the morphology, stigma receptivity, pollen feasibility and germinability, scent releasing areas, and the frequency that the Africanized honeybees visited the flowers, as well as female fertility, which was studied considering the two sowing dates. The frequency of the visitor insects observed during the first 10 minutes of each time, from 8:00 to 17:00h, showed that each insect remained one minute in front of the marked plant. In each analyses session there were recorded: the number of visitation to the rapeseed flowers by each pollinator and the resources collected by the Africanized honeybees; the number of flowers visited by the *Apis mellifera* in a minute; the number of flowers visited by the *Apis mellifera* in only one plant in one minute; and finally how much time the *A. mellifera* spent on the flowers. In this study the analyses were made through different generalized linear models. Rapeseed production can be increased in terms of its productive components with the presence of Africanized bees during flowering time.

Hybrids may have attenuated their production losses, due to cross-pollination by Africanized bees, when conditions were less favorable for the development of culture, namely, when sown were done on 06/25/2011. The foraging activity by Africanized bees may be limited due to weather conditions, causing decreased cross-pollination by potential pollinators, especially the Africanized *A. mellifera* honeybee. Rapeseed hybrids respond differently depending on the sowing date, and the short-cycled Hyola 433 hybrid is the most adequate when sowing occurs in less favorable weather conditions. Rapeseed flowers are hemaphroditic and are arranged in racemose inflorescences, with duration of 48 hours. The ovary has, on average, between  $24.72 \pm 2.8$  eggs. The petals measure between  $14.75 \pm 0.96$  mm of length and  $7.81 \pm 0.77$  mm of diameter. The youngest flowers, aging between 3 and 9 hours and 24 and 33 hours have pollen grains with the ability to release the pollen tube and larger stigma capacity ( $P < 0.05$ ) in relation to the button stage in pre-antheses and flowers between 48 and 51 hours old. Pollen viability present in the corbicula of Africanized honeybees was 97%. Osmophores were found on the entire corolla and anthers. The seed/egg ratio was 74%. The flowers of the hybrids Hyola 61 and 433 are protandric and have mechanisms that allow for the occurrence of allogamy. The data suggest the occurrence of a mixed reproductive mechanism in *B. napus*, considering the ample reproductive flexibility of the species, with a significant rate of egg development in seeds, even when there is no cross-pollination. The Africanized honeybees were the most abundant pollinating insects (89%) among all flower visitors, and the nectar collectors were the most frequent (90%) in the culture. The Africanized honeybees visited  $12.9 \pm 1.40$  flowers in one minute and  $2.96 \pm 1.09$  flowers on only one plant in one minute. The time that honeybees spent on the rapeseed flowers was  $4.2 \pm 1.6$  seconds. The abundance of floral visitors followed the variation of abiotic factors throughout the day, especially the temperature, relative humidity, wind speed, and solar radiation. The Africanized bees were more active than the other pollinators at different times of the day and they also foraged more intensely on the Hyola 433 hybrid than on the Hyola 61 hybrid; the latter was more attractive to the other floral visitors.

**Key words:** pollinators, hybrids, reproductive system, insect behavior, generalized linear models

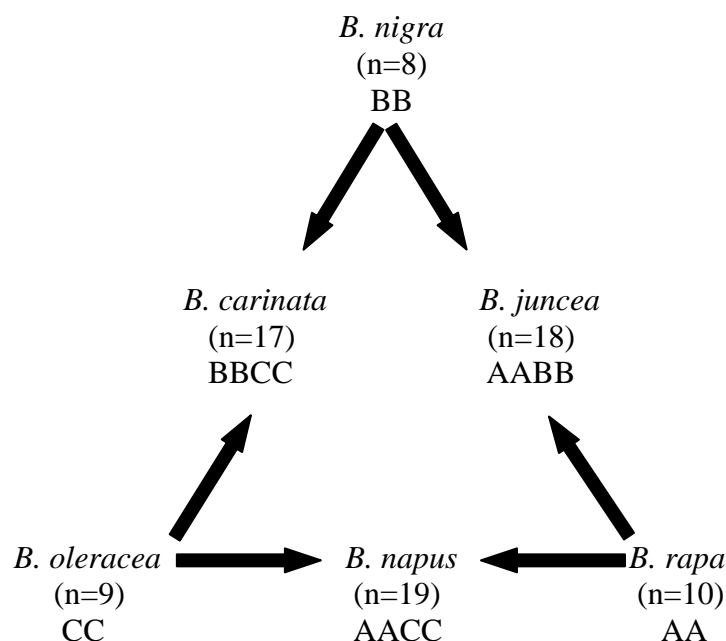
## I – INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Histórico e origem botânica

A canola é uma planta da família das Brassicaceae, pertencente ao gênero *Brassica*. Essa planta foi desenvolvida por melhoramento genético convencional da colza, o que permitiu a redução dos níveis de ácido erúxico e glucosinolatos que são tóxicos aos seres humanos. Por isso a palavra canola, uma derivação de uma expressão em inglês "*CANadian Oil Low Acid*" que refere-se às cultivares genéricas de colza que atendam aos padrões específicos em relação aos níveis dessas substâncias. A canola foi registrada no Canadá em 1970, e atualmente seu nome é empregado para designar três espécies de *Brassica*: *B. napus* ou variedade Argentina, *B. rapa*, também conhecida como Polonesa e *B. juncea* ou mostarda (OGTR 2011).

Estudos taxonômicos realizados na década de 30 evidenciaram que *B. carinata*, *B. juncea* e *B. napus* são espécies alotetraploides formadas por eventos de hibridização entre as espécies parentais diploides *B. nigra*, *B. rapa* e *B. oleracea*. A hibridização entre *B. nigra* e *B. oleracea* resultou na formação de *B. carinata*; entre *B. nigra* e *B. rapa* na formação da *B. juncea* e; entre *B. oleracea* e *B. rapa* em *B. napus* (Nagaharu 1935).

Os genomas haploides de *B. rapa*, *B. nigra* e *B. oleracea* são designados de A, B e C, respectivamente. Assim, diploides de *B. rapa* possuem duas cópias do genoma A em 20 cromossomos (AA, n=10, 2n=20) e diploide de *B. napus* duas cópias de ambos os genomas A e C em 38 cromossomos (AACC, n=19, 2n=38) (Fig. 1).



**Fig. 1.** Triângulo de Nagaharu U ilustrando as relações genômicas entre as espécies de *Brassica*. O genoma haploide das espécies diploides de *B. rapa*, *B. nigra* e *B. oleracea* são referidos como A, B e C, respectivamente.

Análises de DNA mitocondrial e de cloroplastos sugeriram que *B. montana* (n = 9) possa estar intimamente relacionada com o protótipo que deu origem a ambos os citoplasmas de *B. rapa* e *B. oleracea*. Ainda, resultados a partir de análises filogenéticas evidenciaram que há múltiplas origens de *B. napus* e que as formas mais cultivadas desta espécie derivaram de um cruzamento em que uma espécie ancestral estreitamente aparentada de *B. rapa* e *B. oleracea* foi a doadora materna (Song e Osborn 1992).

## 1.2 Aspectos da biologia floral

As flores de *B. napus* são bissexuais, possuem quatro sépalas, quatro pétalas, quatro estames longos e dois curtos na mesma flor. As anteras apresentam deiscência longitudinal. O ovário é súpero, com placentação parietal, gamocarpelar e bicarpelar. Há nectários localizados no centro da flor, dois entre o ovário e os dois estames curtos, e dois entre os dois estames longos e as pétalas (Mussury e Fernandes 2000).

A antese nas flores de canola pode ocorrer a qualquer momento do dia, mas geralmente ocorre no início da manhã, por volta das 9h, quando a maior parte delas já está aberta. As flores permanecem abertas por até três dias, sendo que a noite elas se fecham parcialmente e a abertura ocorre novamente na manhã seguinte. As flores de

canola de inverno ficam abertas durante um a três dias, enquanto as de primavera permanecem abertas durante um a dois dias. A floração, que se estende de 22 a 45 dias, depende das condições meteorológicas (Free 1993, Delaplane e Mayer 2000). Por exemplo, quando o tempo está frio e úmido, as flores ficam abertas por mais tempo em relação aos dias mais quentes e secos (Williams 1985).

Nas cultivares do gênero *Brassica* autoestéreis, as anteras dos estames longos liberam o pólen para o ambiente e a polinização cruzada é essencial. Por outro lado, em algumas cultivares autoestéreis, a liberação do pólen se inicia antes mesmo da abertura da flor e continua até o término da antese. Nessas cultivares, durante o período de florescimento, o estigma alcança a posição dos estames longos, as anteras liberam inicialmente o pólen para o ambiente e, posteriormente, curvam-se para que algum pólen seja dirigido para o estigma da mesma flor. Em outras cultivares, principalmente àquelas que produzem sementes amarelas, os grãos de pólen produzidos nas anteras são depositados sobre o estigma da mesma flor, conduzindo a autopolinização (Free 1993).

A superfície estigmática é receptiva ao pólen por até três dias após a antese. No caso da temperatura ser elevada, acima de 27°C, quase todos os grãos de pólen são despreendidos no primeiro dia de antese, o tempo em que a flor fica receptiva ao pólen e a viabilidade do pólen é diminuído. A temperatura mais propícia para a cultura da canola são as regiões com média em torno de 20°C durante o ciclo. A fertilização ocorre dentro de 24h após a polinização. Após a polinização e fecundação, a flor permanece parcialmente fechada e as pétalas começam a desprender-se (2 a 3 dias após a abertura da flor). A siliqua jovem torna-se visível no centro da flor um dia após a queda das pétalas (Thomas 2003).

Outro fator importante em canola diz respeito à fertilização dos óvulos, em especial a porcentagem de óvulos com sacos embrionários completos na abertura da flor. Mesmo com uma grande deposição de pólen sobre o estigma, uma polinização incompleta pode ocorrer. Em canola, geralmente, 30% dos óvulos são estéreis pela ausência de sacos embrionários completos na abertura da flor. A menor proporção de óvulos com sacos embrionários completos acarretará em uma não fertilização de todos os óvulos da flor e, conseqüentemente, em um menor número de sementes por siliqua (Wang et al. 2009).

No racemo terminal, a menor proporção de óvulos férteis pela esterilidade dos óvulos e o menor número de óvulos por ovário em flores apicais são algumas das causas

para o menor número de sementes por siliqua na região apical em comparação à região basal (Bouttier e Morgan 1992).

O ciclo de vida da planta de canola é dividido em sete estádios principais: germinação (estádio 0), desenvolvimento foliar (estádio 1), desenvolvimento dos ramos laterais (estádio 2), alongamento do caule (estádio 3), emergência da inflorescência (estádio 4), florescimento (estádio 5), desenvolvimento das sementes (estádio 6) e maturação (estádio 7). O conhecimento dos estádios de desenvolvimento da planta em canola é importante para a tomada de decisões e manejo da cultura. No entanto, o início de cada estágio de desenvolvimento não é dependente do término da etapa anterior. Desde o início do florescimento, cada etapa de crescimento é determinada por meio da análise do caule principal de floração. O calendário e a ocorrência dos diferentes estádios de crescimento irão variar de acordo com as condições de crescimento, localização e variedade empregada no cultivo (Thomas 2003).

### 1.3 Exigências de polinização em canola

Em muitas espécies de plantas, a polinização é essencial para a reprodução sexual. Muitas características florais são adaptações para promoção da polinização cruzada e evoluíram para reduzir o impacto negativo da depressão endogâmica e aumentar a possibilidade de sucesso do sexo masculino (Barrett 2002).

As flores polinizadas por animais, geralmente, possuem pétalas atraentes e oferecem recompensa floral, como néctar ou pólen (McGregor 1972, Free 1993). No entanto, as visitas dos polinizadores, algumas vezes, podem não atender às necessidades das plantas e a produção de sementes pode ser limitada pela quantidade de pólen depositada no estigma (Wilcock e Neiland 2002).

Nas plantas com flores hermafroditas e autocompatíveis, como, por exemplo, a *B. napus*, a autopolinização pode oferecer garantia reprodutiva quando há escassez de visitas de agentes polinizadores. Os sistemas de acasalamentos mistos, que incluem a autopolinização são, portanto, adaptativos (Morgan e Wilson 2005), embora possa haver consequências prejudiciais por causa da depressão endogâmica (Cresswell 1999).

Apesar disso, em canola, os insetos polinizadores, em especial as abelhas *Apis mellifera*, podem desempenhar importante papel na polinização e acredita-se estarem envolvidas na transferência de pólen a longas distâncias (OECD 1997). As abelhas

melíferas combinadas a outras espécies de abelhas podem resultar em melhor polinização do que qualquer população sozinha de inseto (DeGrandi-Hoffman e Watkins 2000).

A canola possui flores capazes tanto de autopolinização quanto de polinização cruzada, embora que em condições de campo a fertilização dos óvulos de suas flores geralmente resulte, em sua maior parte, da autopolinização (OECD 1997, OGTR 2011). A taxa de polinização cruzada, que em canola é aproximadamente 30%, pode sofrer variações em decorrência da abundância e diversidade de insetos polinizadores, cultivar e condições meteorológicas (CFIA 1999, OGTR 2011).

Apesar da maior taxa de autopolinização comparada à polinização cruzada em canola, maior produção de sementes tem sido relatada quando a cultura é polinizada por abelhas (Williams et al. 1987, Manning e Boland 2000, Sabbahi et al. 2005, Araneda-Durán et al. 2010, Rosa et al. 2011). As flores de canola secretam grandes quantidades de néctar e são muito atrativas para as abelhas *A. mellifera* e outros insetos polinizadores (Free 1993, Delaplane e Mayer 2000).

Além disso, em canola, apesar da autogamia, mecanismos para ocorrência de alogamia foram encontrados a partir de estratégias reprodutivas utilizadas por esta espécie como, por exemplo, pólen abundante, néctar e odor. Esses mecanismos foram importantes para o melhoramento genético da espécie, favorecendo a ocorrência de características mais adaptativas (Mussury e Fernandes 2000).

Apesar dos dados ainda serem conflitantes e divergentes entre as variedades de canola quanto aos benefícios da polinização entomófila, há evidências que os insetos podem melhorar qualitativamente e quantitativamente a produção agrícola. A interdependência de abelhas e o gênero *Brassica* se manifestam no fato de que o seu pólen é muito pegajoso e há necessidade de insetos vetores de pólen para a sua transferência. Para plantas de *Brassica* spp., as abelhas estão coevoluídas nos dispositivos de transferência de pólen (Abrol 2007).

A autopolinização pode promover a produção de sementes, porém, para isso o pólen viável deve entrar em contato com o estigma no momento em que ele é receptivo. O grau de autopolinização seria máximo quando o estigma é empurrado para cima através das anteras. Entretanto, caso o tempo, a disponibilidade do pólen ou receptividade do estigma não sejam sincronizados, a produção de sementes não irá ocorrer (DeGrandi-Hoffman e Chambers 2006).



A eficiência do processo de polinização entomófila depende, principalmente, das condições climáticas, pois afeta igualmente a cultura, bem como os polinizadores (Abrol 2007). Altas temperaturas na pré-antese podem causar a esterilidade do pólen, e na antese, crescimento retardado do tubo polínico (Prasad et al. 2001), bem como altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar podem levar à diminuição da receptividade do estigma (Hedhly et al. 2004) e degeneração dos óvulos da flor (Cerovic et al. 2000). Assim, a compreensão do papel dos polinizadores e dos fatores que afetam as interações inseto-planta pode ser de grande importância para o aumento da produção de grãos em canola.

Aliado a isso, deve-se considerar que a maioria das espécies de *Brassica* é autoincompatível, portanto, visitas de insetos são necessárias para a produção de sementes (Delaplane e Mayer 2000, Morandin e Winston 2005). Em espécies de *Brassica* em que ocorre autoincompatibilidade (AI), os grãos de pólen incompatíveis mal germinam no estigma e, quando germinam, seus tubos polínicos não conseguem crescer sobre as células papilares na superfície estigmática (Schifino-Wittmann e Dall'Agnol 2002).

Em canola, o estigma pode acumular pólen, na ausência de insetos polinizadores, a partir do pólen de suas próprias anteras por autopolinização espontânea, por contato mecânico causado por colisões entre flores ou polinização anemófila, bem como pela polinização cruzada (Hoyle et al. 2007).

Nas mais baixas densidades de polinizadores, a produção de sementes em canola ocorre pelo mecanismo de autopolinização espontânea na flor e ao contato mecânico causado por colisões entre flores ou polinização anemófila. Por outro lado, em densidades moderadas de abelhas, os modos de polinização não insetos e a polinização entomófila contribuem igualmente para a produção de sementes. Mesmo nos níveis mais elevados de abundância de polinizadores encontrados em campos agrícolas, a autopolinização espontânea é responsável por quase um terço da produção. (Hoyle et al. 2007).

Neste contexto, deve-se considerar que a dinâmica da transferência do pólen mediada pelas abelhas depende da quantidade de pólen disponível, bem como das taxas de remoção de pólen das anteras e deposição sobre os estigmas, dos polinizadores específicos (Thomson e Goodell 2002).

Os polinizadores com alta remoção e baixa deposição de pólen (HRLD) sobre os estigmas das flores beneficiarão uma espécie vegetal quando não houver melhor

polinizador disponível. Os polinizadores com alta remoção de pólen e alta deposição (HRHD) sobre os estigmas podem ter diminuição da transferência total de pólen, em decorrência das visitas de polinizadores HRLDs. Os HRLDs parasitam as plantas, desviando os grãos que seriam entregues pelos HRHDs. Em situações em que dois visitantes removam quantidades iguais de pólen, aquele com maior taxa de entrega será sempre um polinizador mais eficiente; caso remova quantidades diferentes, o que é melhor não depender apenas das taxas de deposição, mas de outras variáveis, incluindo os horários de visitação para a deposição (Thomson e Goodell 2002).

#### 1.4 Impacto da polinização por abelhas em *B. napus*

Os híbridos de canola cultivados comercialmente são predominantemente autoférteis, porém o grau de polinização cruzada ainda é incerto (Abrol 2012). Em culturas pouco dependentes de polinizadores, como a canola, a introdução de colônias de abelhas geralmente não é recomendada (Cunningham et al. 2002). Por outro lado, desde que as flores destes híbridos sejam atrativas aos polinizadores, a introdução de 3-5 colônias de *A. mellifera* ou 5-8 colônias de *A. cerana*, distribuídas uniformemente por hectare, pode ser ideal para o incremento da produção e maior conteúdo de óleo das sementes (Abrol 2012).

Há evidências de que a polinização por abelhas em canola proporciona aumento na produtividade, melhorando o rendimento e contribuindo para a uniformidade e estabelecimento inicial das síliques (Abrol 2007, Abrol e Shankar 2012).

Na cultura de *B. napus*, o número de vagens por planta pode diminuir 16% em plantas localizadas a uma distância de 1.000 m do apiário (Manning e Boland 2000). Manning e Wallis (2005) encontraram uma produtividade de grãos 20% ou 400 kg.ha<sup>1</sup> maior em parcelas localizadas próximas ao apiário em relação àquelas localizadas a uma distância de 200 m do apiário. Pordel et al. (2007) relataram que os insetos polinizadores, em especial *A. mellifera*, mais abundantes na cultura da canola, poderiam aumentar o rendimento de grãos em 53%.

A influência da densidade de abelhas melíferas sobre a produção de canola em nove campos agrícolas, com três densidades de abelhas: 0, 1,5 e 3,0 colônias/hectare foi avaliada. Os resultados deste experimento indicaram melhoria na produtividade de

sementes de 46% na presença de três colônias por hectare em relação à área ausente de polinizadores (Sabbahi et al. 2005).

Araneda-Durán et al. (2010) avaliaram a produção em *B. napus* cv. Artus polinizada por *A. mellifera* a partir de um experimento que consistiu de três tratamentos: exclusão dos polinizadores as plantas de canola, exclusão parcial e polinização livre com uma densidade de 6,5 colônias/hectare. Os resultados evidenciaram aumento de produtividade de sementes induzido pelo tratamento com polinização livre de 50,34% sobre a exclusão total e 11,46% em relação à exclusão parcial.

Na cultivar Hyola 432 de canola foi observado que a polinização por insetos foi 35,64%, 54,87% e 40% maior para as variáveis número de siliquas por planta, número de sementes por siliqua e peso médio das siliquas, respectivamente, em relação à condição de autogamia (Rosa et al. 2011).

Na cultivar CTC-4 de canola, as visitas de abelhas melíferas coletoras de néctar e de pólen contribuíram para o aumento da produção de siliquas por metro quadrado e massa de cada grão. Porém, nenhuma influência foi registrada no número total de sementes por siliqua, sementes normais e anormais por siliqua, germinação e teor de óleo em sementes (Adegas e Nogueira-Couto 1992).

Por outro lado, resultados divergentes foram obtidos em experimento realizado com a cultivar CTC-4 de canola em Dourados, Brasil. Nesse experimento não houve diferenças estatísticas significativas quando contrastados os tratamentos de polinização livre e autogamia para as variáveis tamanho de siliquas, número de sementes por siliqua e peso de dez siliquas (Mussury e Fernandes 2000).

Deve-se considerar que a produtividade de sementes em canola é uma função da densidade populacional, do número de siliquas por planta, do número de sementes por siliqua e do peso de sementes, sendo o número de siliquas por planta a variável mais importante para o aumento da produtividade de grãos, em especial em plantios com baixas densidades de plantas e populações não uniformes (Angadi et al. 2003).

## 1.5 Situação e aspectos econômicos

A canola é uma espécie de clima frio, portanto, o seu cultivo comercial no mundo concentra-se em regiões temperadas, principalmente em latitudes superiores a 35°

(McClinchey e Kott 2008). A temperatura do ar e a disponibilidade de água são as variáveis ambientais mais importantes para o seu crescimento e desenvolvimento (Gan et al. 2004).

A maioria da canola produzida na Europa é do tipo invernal, entretanto, no Brasil somente há plantios de cultivares de primavera (“spring canola”) e da espécie *Brassica napus* L. Isso ocorre porque mesmo nas condições mais frias do Brasil, como no Rio Grande do Sul, o número de horas necessárias de frio para as cultivares invernais é insuficiente (Tomm et al. 2009).

O seu cultivo se deve principalmente pelas suas sementes, as quais produzem entre 35% a 45% de óleo. O principal emprego da canola é como óleo de cozinha, mas também é comumente usado na margarina. O farelo de canola é produzido como um subproduto durante a extração do óleo das sementes e utilizado como fonte de alto teor de proteína, destinado à alimentação animal (OGTR 2011). Além disso, a canola é uma excelente alternativa para rotação de culturas com gramíneas e leguminosas, além de inserir-se adequadamente nos sistemas de cultivo que predominam no Sul do Brasil (Dalmago et al. 2008).

Atualmente, a canola responde por 15% da produção de óleos vegetais, logo atrás da soja (28,6%) e da palma (33,2%), além de ser a terceira maior “commodity” mundial (CONAB 2011). Os principais produtores mundiais na safra 2011/2012 foram a União Europeia, Canadá, China e Índia. A produção mundial do grão de canola na safra 2011/12 foi projetada em 60,93 milhões de toneladas, em 33,76 milhões de hectares de área plantada (USDA 2012).

No Brasil, a produção de grãos de canola na safra de 2011/2012 foi de 52 mil toneladas, em 42.400 hectares de área plantada, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor, seguido do Paraná (CONAB 2013). Os produtores têm colhido, em média, 20,44 sacas por hectare ou o equivalente a 1.226,00 kg.ha<sup>-1</sup>, com custos de produção de R\$ 1.310,00 por hectare. O preço da saca de 60 kg da canola comercializada em agosto de 2012 foi de R\$ 72,66 (CONAB 2012). Portanto, a receita bruta da cultura pode ser estimada em, aproximadamente, R\$ 62,9 milhões, com um faturamento líquido de R\$ 7,4 milhões.

As abelhas são as mais importantes e economicamente as mais valiosas polinizadoras em todo o mundo. Muitas culturas de interesse econômico, tais como as oleaginosas, são dependentes, pelo menos em parte, da polinização realizada por esses insetos. A evidência disto é que, em 2005, o valor econômico mundial dos serviços de

polinização totalizou 153 bilhões de euros, o que representou 9,5% do valor econômico da produção agrícola mundial utilizada para consumo humano (Gallai et al. 2009). Apenas nos EUA, em 2000, o benefício gerado pelos serviços de polinização por abelhas totalizou 14,6 bilhões de dólares (Morse e Calderone 2000).

O valor econômico das abelhas *A. mellifera* para a cultura da canola no Brasil pode ser simulado a fim de determinar a contribuição das abelhas africanizadas para o valor econômico total da produção desta oleaginosa. Essa estimativa pode ser realizada a partir da equação  $V_{hb} = V \times D \times P$  (Robinson et al. 1989, Morse e Calderone 2000), em que  $V_{hb}$  é o valor anual da cultura atribuído às abelhas *A. mellifera*;  $V$  é o valor da produção de canola em grãos na safra 2011/2012, publicado pelo CONAB (2012);  $D$  é a dependência da cultura por animais polinizadores de 0,25 (Gallai et al. 2008);  $P$  é a proporção efetiva de insetos polinizadores que são *A. mellifera* L., obtida por Morse e Calderone (2000) de 0,90. Portanto,  $V_{hb} = 62,9 \times 0,25 \times 0,90 = R\$14,2$  milhões.

Assim, o valor de R\$ 14,2 milhões atribuído às abelhas evidencia que os serviços de polinização em canola merecem mais investigações, pela escassez de conhecimentos sobre as exigências de polinização dos diversos híbridos comercializados no Brasil. Além disso, o benefício gerado pelas abelhas pode sofrer alterações em decorrência das condições climáticas e do híbrido empregado, o que indica mais uma vez a importância em se compreender os possíveis fatores que possam afetar o processo de polinização realizado por esses insetos.

Ademais, a crescente demanda dos setores produtivos impulsiona o considerável aumento de área cultivada com canola no Brasil, apesar da ligeira queda de produção ocasionada pelas condições ambientais insatisfatórias. Atualmente, a maioria das lavouras brasileiras ocorre no Rio Grande do Sul e no Paraná, com algumas lavouras em Mato Grosso do Sul e Santa Catarina. Os produtores brasileiros estão aprimorando o conhecimento técnico sobre o cultivo e a colheita, melhorando os resultados finais da safra (CONAB 2011).

## Referências Citadas

- Abrol, D. P. 2007.** Honeybees and rapeseed: a pollinator-plant interaction. *Adv. Bot. Res.* 45: 337-367.
- Abrol, D. P. 2012.** Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production. Springer, New York, NY.
- Abrol, D. P., and U. Shankar. 2012.** Pollination in oil crops: recent advances and future strategies, p. 221-267. *In* S. K. Gupta (ed.), Technological innovations in major world oil crops, vol. 2. Springer, New York, NY.
- Adegas, J. E. B., and R. H. Nogueira-Couto. 1992.** Entomophilous pollination in rape (*Brassica napus* L. var *oeifera*) in Brazil. *Apidologie* 23: 203-209.
- Angadi, S. V., H. W. Cutforth, B. G. McConkey, and Y. Gan. 2003.** Yield adjustment by canola grown at diferente plant populations under semiarid conditions. *Crop Sci.* 43: 1358-1366.
- Araneda-Durán, X., R. B. Ulloa, J. A. Carrillo, J. L. Contreras, and M. T. Bastidas. 2010.** Evaluation of yield component traits of honeybee-pollinated (*Apis mellifera* L.) rapeseed canola (*Brassica napus* L.). *Chil. J. Agric. Res.* 70: 309-314.
- Barrett, S. C. H. 2002.** The evolution of plant sexual diversity. *Nat. Rev. Genet.* 3: 274-284.
- Bouttier, C., and D. G. Morgan. 1992.** Ovule development and determination of seed number per pod in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J. Exp. Bot.* 42: 109-714.
- (CFIA) Canadian Food Inspection Agency. 1999.** The biology of *Brassica napus*. Plant Biosafety Office, Canadá.
- Cerovic, R., D. Ruzic, and N. Micic. 2000.** Viability of plum ovules at different temperatures. *Ann. Appl. Biol.* 137: 53-59.
- (CONAB) Companhia Nacional de Abastecimento. 2011.** Canola. Conab, Brasília, DF. (<http://conab.gov.br>).
- (CONAB) Companhia Nacional de Abastecimento. 2012.** Canola. Conab, Brasília, DF. (<http://conab.gov.br>).
- (CONAB) Companhia Nacional de Abastecimento. 2013.** Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento. Conab, Brasília, DF. (<http://conab.gov.br>).
- Cresswell, J. E. 1999.** The influence of nectar and pollen availability on pollen transfer by individual flowers of oil-seed rape (*Brassica napus*) when pollinated by bumblebees (*Bombus lapidarius*). *J. Ecol.* 87: 670-677.
- Cunningham, S., F. Fitzgibbon, and T. A. Heard. 2002.** The future of pollinators for Australian agriculture. *Aust. J. Agr. Res.* 53: 893-900.

- Dalmago, G. A., G. R. Cunha, G. O. Tomm, L. F. Pires, A. Santi, A. Pasinato, G. Fanton, I. Luersen, F. L. D. Müller, and A. L. Müller. 2008.** Zoneamento agroclimático para o cultivo de canola no Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Agrometeorol.* 16: 295-305.
- DeGrandi-Hoffman, G., and J. C. Watkins. 2000.** The foraging activity of honey bees *Apis mellifera* and non-*Apis* bees on hybrid sunflower (*Helianthus annuus*) and its influence on cross-pollination and seed set. *J. Apic. Res.* 39: 37-45.
- DeGrandi-Hoffman, G., and M. Chambers. 2006.** Effects of honey bee (Hymenoptera: Apidae) foraging on seed set in self-fertile sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Environ. Entomol.* 35: 1103-1108.
- Delaplane, K. S., and D. F. Mayer. 2000.** Crop pollination by bees. CABI Publishing, New York, NY.
- Free, J. B. 1993.** Insect pollination of crops, 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, London, UK.
- Gallai, N., J. M. Salles, J. Settele, and B. E. Vaissière. 2009.** Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.* 68: 810-821.
- Gan, Y., S. V. Angadi, H. Cutforth, D. Potts, V. V. Angadi, and C. L. McDonald. 2004.** Canola and mustard response to short periods of temperature and water stress at different developmental stages. *Can. J. Plant Sci.* 84: 697-704.
- Hedhly, A., J. I. Hormaza, and M. Herrero. 2004.** Effect of temperature on pollen tube kinetics and dynamics in sweet cherry, *Prunus avium* (Rosaceae). *Am. J. Bot.* 91: 558-564.
- Hoyle, M., K. Hayter, and J. E. Cresswell. 2007.** Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecol. Appl.* 17: 2123-2135.
- Manning, R., and J. Boland. 2000.** A preliminary investigation into honey bee (*Apis mellifera*) pollination of canola (*Brassica napus* cv Karoo). *Austr. J. Exp. Agric.* 40: 439-442.
- Manning, R., and I. Wallis. 2005.** Seed yields in canola (*Brassica napus* cv. Karoo) depend on the distance of plants from honeybee apiaries. *Austr. J. Exp. Agric.* 45: 1307-1313.
- McClinchey, S. L., and L. S. Kott. 2008.** Production of mutants with high cold tolerance in spring canola (*Brassica napus*). *Euphytica* 162: 51-67.
- McGregor, S. E. 1976.** Insect pollination of cultivated crop plants. USDA, Washington, D.C..
- Morandin, L. A., and M. L. Winston. 2005.** Wild bee abundance and seed production in conventional, organic, and genetically modified canola. *Ecol. Appl.* 15: 871-881.
- Morgan, M. T., and W. G. Wilson. 2005.** Self-fertilization and the escape from pollen limitation in variable pollination environments. *Evolution* 59: 1143-1148.
- Morse, R. A., and N. W. Calderone. 2000.** The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. *Bee Cult.* 132: 1-15.
- Mussury, R. M., and W. D. Fernandes. 2000.** Studies of the floral biology and reproductive system of *Brassica napus* L. (Cruciferae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 43: 0-0.
- Nagaharu, U. 1935.** Genome analysis in Brassica with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *J. Jap. Bot.* 7: 389-452.
- (OCDE) Environmental Health and Safety Publications. 1997.** Consensus document on the biology of *Brassica napus* L. (Oilseed Rape). OECD, França.

- (OGTR) Office of the Gene Technology Regulator. 2011.** Biology of *Brassica napus* L. (Canola). OGTR, Australian.
- Prasad, P. V. V., P. Q. Crauford, V. G. Kakani, T. R Wheeler, and K. Boote. 2001.** Influence of high temperature during pre- and post-anthesis stages of floral development on fruit-set and pollen germination in peanut. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 233-240.
- Pordel, M. R., B. Hatami, M. Mobli, and R. Ebadi. 2007.** Identification of insect pollinators of three different cultivars of winter canola and their effect on seed yield in Isfahan. *J. Sci. Technol. Agric. Nat.l Resour.* 10: 413-426.
- Robinson, W. S., R. Nowogrodzki, R. A. Morse. 1989.** The value of honeybees as pollinators of U.S. crops. *Am. Bee J.* 129: 411-423.
- Rosa, A. D. S., B. Blochtein, and D. K. Lima. 2011.** Honey bee contribution to canola pollination in Southern Brazil. *Sci. Agric.* 68: 255-259.
- Sabbahi, R., D. Oliveira, and J. Marceau. 2005.** Influence of honey bee (Hymenoptera: Apidae) density on the production of canola (Cruciferae: Brassicaceae). *J. Econ. Entomol.* 98: 367-372.
- Schifino-Wittmann, M. T., and Dall'agnol, M. 2002.** Autoincompatibilidade em plantas. *Cienc. Rural* 32: 1083-1090.
- Song, K., and T. C. Osborn. 1992.** Polyphyletic origins of *Brassica napus*: New evidence based on organelle and nuclear RFLP analyses. *Genome* 35: 992-1001.
- Thomas, P. 2003.** Canola growers manual. Canola Council of Canada, Winnipeg, Canadá.
- Thomson, J. D., and Goodell, K. 2002.** Pollen removal and deposition by honeybee and bumblebee visitors to apple and almond flowers. *J. Appl. Ecol.* 38: 1032-1044.
- Tomm, G. O., P. E. P. Ferreira, J. L. P. Aguiar, A. M. G. Castro, S. M. V. Lima, and C. Mori 2009.** Panorama atual e indicações para o aumento de eficiência da produção de canola no Brasil. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.
- (USDA) United States Department of Agriculture. 2012.** World agricultural production. USDA, Washington, D.C. (<http://usda01.library.cornell.edu/usda/fas/worldag-production//2010s/2011/worldag-production-05-11-2011.pdf>).
- Wang, X., A. Mathieu, P. H. Cournède, J. M. Allirand, A. Jullien, P. Reffye, and B. G. Zhang. 2009.** Stochastic models in floral biology and its application to the study of oilseed rape (*Brassica napus* L.) fertility, pp. 175-182. *In* B. Li, Y. Guo, and M. Jaeger (Eds.), Proceedings, Symposium: the Third International Symposium on Plant Growth Modeling, Simulation, Visualization and Applications (PMA 09), 9-13 November 2009, Beijing, China.
- Wilcock, C., and R. Neiland. 2002.** Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends Plant Sci.* 7: 270-277.
- Williams, I. 1985.** The pollination of swede rape (*Brassica napus* L.). *Bee World* 66: 16-22.
- Williams, I. H., A. P. Martin, and R. P. White. 1987.** The effect of insect pollination on plant development and seed production in winter oil-seed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agric. Sci.* 109: 135-139.



## II – OBJETIVOS GERAIS

- avaliar o efeito da polinização por abelhas (*Apis mellifera* L.) sobre os parâmetros produtivos e de qualidade fisiológica em sementes na canola (*Brassica napus* L.), híbridos Hyola 61 e 433, semeados em duas épocas (25/05/2011 e 25/06/2011);
- estudar a biologia floral e a fertilidade feminina dessa cultura em duas épocas de semeadura;
- determinar quais são os visitantes florais em canola e os seus comportamentos de forrageamento às flores, considerando variáveis meteorológicas específicas.

### III – Polinização de Híbridos de Canola (*Brassica napus* L.) por Abelhas Africanizadas (Hymenoptera: Apidae) em Duas Épocas de Semeadura

**RESUMO** Neste estudo realizado no Oeste do estado do Paraná, Brasil, dois híbridos de canola foram avaliados para os componentes de produção de grãos e qualidade fisiológica de sementes, em três testes de polinização e duas épocas de semeadura. O delineamento experimental foi em blocos casualizados completos em esquema fatorial 2 x 3 x 2, totalizando 12 tratamentos, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de dois híbridos de canola (Hyola 61 e Hyola 433), três testes de polinização (área descoberta, área coberta sem insetos e área coberta com uma colônia de *A. mellifera* africanizada) e duas épocas de semeadura (25/05/2011 e 25/06/2011). A produção em canola pode ser aumentada em termos de seus componentes produtivos com a presença de abelhas africanizadas durante a floração. Os híbridos podem ter suas perdas produtivas atenuadas devido à polinização cruzada realizada pelas abelhas africanizadas, especialmente quando as condições climáticas são menos propícias para o desenvolvimento da cultura. A atividade de forrageamento das abelhas africanizadas pode ser limitada em decorrência dos fatores climáticos, ocasionando menor dependência da planta de canola aos potenciais polinizadores, em especial *A. mellifera* africanizada. Os híbridos de canola respondem diferentemente em relação à época de plantio, sendo o híbrido Hyola 433 de ciclo curto, o mais indicado quando a semeadura ocorre em condições ambientais menos propícias.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Apis mellifera*, polinizadores, condições ambientais, *Brassicaceae*

**ABSTRACT** In this study carried out in the Western part of the Paraná state, Brazil, two self-fertile hybrid commercial rapeseed genotypes were evaluated for grain yield components and seeds physiological quality utilizing three pollination tests and two sowing dates. The experimental design was a randomized block in a factorial scheme 2 x 3 x 2, totalizing 12 treatments with four replications. The treatments consisted by the combinations of two rapeseed genotypes (Hyola 61 and Hyola 433), three pollination tests (uncovered area, covered area without insects and covered area with one colonies Africanized *A. mellifera* honeybees) and two sowing dates (05/25/2011 and 06/25/2011). Rapeseed production can be increased in terms of its productive components with the presence of Africanized bees during flowering time. Hybrids may

have attenuated their production losses, due to cross-pollination by Africanized bees, when conditions were less favorable for the development of culture. The foraging activity by Africanized bees may be limited due to weather conditions, causing decreased cross-pollination by potential pollinators, especially the Africanized *A. mellifera* honeybee. Rapeseed hybrids respond differently depending on the sowing date, and the short-cycled Hyola 433 hybrid is the most adequate when sowing occurs in less favorable weather conditions.

**KEY WORDS:** *Apis mellifera*, pollinators, climatic conditions, *Brassicaceae*

## Introdução

A canola (*Brassica napus* L. var oleífera Metzger) é uma importante cultura oleaginosa no Brasil, mas a produtividade média de 1.226 kg.ha<sup>-1</sup> (CONAB 2012) é muito menor do que a média mundial de 1.820 kg.ha<sup>-1</sup> (USDA 2012). A introdução de colônias de abelhas *Apis mellifera* L. em canola pode ser uma alternativa para aumentar os seus índices produtivos (Abrol e Shankar 2012).

Embora a canola seja considerada uma planta predominantemente autopolinizável e autocompatível (Hoyle et al. 2007, OGTR 2011, Abrol 2012), a contribuição das abelhas melíferas para a polinização desta espécie tem proporcionado aumento significativo na produtividade de grãos (Williams et al. 1987, Morandin e Winston 2005, Sabbahi et al. 2005, Abrol 2007, Araneda-Durán et al. 2010, Pierre et al. 2010, Rosa et al. 2011).

A taxa de polinização cruzada em canola varia de acordo com a diversidade de insetos polinizadores, cultivar e condições climáticas (CFIA 1999). A eficiência do processo de autopolinização e polinização cruzada que conduz a produção de grãos é dependente de fatores relacionados aos mecanismos reprodutivos da própria planta (protandria ou protoginia) e das condições ambientais. Na Suécia, por exemplo, uma investigação em diferentes localidades sobre a taxa de polinização cruzada em *B. napus* cultivar “Topa”, constatada por meio da análise de isoenzimas, indicou uma variação na taxa de polinização cruzada de 12% a 47% (Becker et al. 1992).

As regiões mais propícias para o cultivo da canola são aquelas em que a temperatura média é de 20°C durante o seu ciclo (Thomas 2003). Temperaturas maiores que 27°C podem resultar em esterilidade floral, com consequente perda da produtividade de grãos em canola (Morrison e Stewart 2002), bem como temperaturas altas na pré-antese podem causar a esterilidade do pólen e, na antese, crescimento retardado do tubo polínico (Prasad et al. 2001).

Os fatores climáticos também podem atuar indiretamente sobre a produção de grãos em canola, limitando a atividade dos insetos na coleta de recursos florais. As abelhas africanizadas possuem faixas ideais de temperatura e de umidade relativa para a coleta de néctar e pólen (Malerbo-Souza e Silva 2011). A menor atividade de forrageamento dos agentes polinizadores as flores pode resultar em uma menor remoção de pólen das anteras e, consequentemente menor deposição de pólen sobre o estigma,

limitando o efeito da polinização cruzada realizada pelos insetos (Thomson e Goodell 2002, Wilcock e Neiland 2002).

Uma compreensão das possíveis interações entre os fatores ecológicos e ambientais que possam influenciar os componentes de produtividade e de qualidade das sementes em canola pode ser de grande importância para a obtenção do máximo potencial produtivo desta cultura. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar as possíveis interações entre testes de polinização, híbridos de canola e épocas de semeadura em relação às variáveis produtivas e de qualidade das sementes. Os efeitos dos fatores ambientais sobre os aspectos produtivos e de qualidade das sementes foram explorados por meio da semeadura dos genótipos de canola em duas épocas distintas.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido com a cultura da canola (*Brassica napus* L. var. oleífera) durante a safra 2011, na Estação Experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, localizada no município de Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil (24°32'09"S e 54°01'11"W; 392 m a.n.m.).

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Eutoférico (Embrapa 1999). Próxima à área experimental havia cultivos de crambe (*Crambe abyssinica*), quinoa (*Chenopodium quinoa*), milho (*Zea mays*) e de *B. napus* e a, aproximadamente, 1 km, um apiário com seis colônias de abelhas africanizadas.

Os híbridos de canola avaliados neste ensaio foram o Hyola 61 de ciclo médio, caracterizado por possuir ampla adaptação às diversas condições ambientais existentes no Brasil e híbrido Hyola 433 de ciclo curto, que apresenta elevada exigência de fatores ambientais favoráveis, especialmente solos de alta fertilidade (Tomm et al. 2009).

Os dados meteorológicos locais durante a condução do experimento foram coletados e registrados com auxílio da Estação Meteorológica Experimental da Unioeste e estão contidos na Fig. 1.

O delineamento experimental empregado foi o de blocos casualizados completos em esquema fatorial 3x2x2, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de três testes de polinização (área demarcada livre à visitação por insetos – controle; área coberta com gaiola de polinização com uma colônia de *A. mellifera* – área visitada apenas por abelhas africanizadas e; área coberta com gaiola de

polinização sem abelhas – área de exclusão total de insetos), duas épocas de semeadura (25/05/2011 e 25/06/2011) e dois híbridos de canola (Hyola 61 e Hyola 433).

A área experimental possuía 90 m de comprimento, 21 m de largura e 1.512 m<sup>2</sup> de área efetiva semeada. Os híbridos de canola foram implantados em sistema de plantio direto e o milho cultivado na entressafra foi a cultura antecessora. Na adubação de base, foram utilizados 200 kg ha<sup>-1</sup> do formulado 12-15-15 (NPK).

A semeadura dos híbridos foi realizada em 25/05/2011 e 25/06/2011, em 48 parcelas de 24 m<sup>2</sup> cada. A semeadura em cada parcela foi realizada em oito linhas espaçadas de 0,45 m, com o espaçamento entre plantas, na linha, de 0,05 m. A profundidade de semeadura foi de 0,01 m. No estágio de duas a quatro folhas verdadeiras foi realizado um desbaste para obtenção de uma densidade uniforme de 40 plantas m<sup>-2</sup> nas parcelas. Na adubação de cobertura, no estágio fenológico de quatro folhas desenvolvidas aplicaram-se 30 kg de N ha<sup>-1</sup>, na forma de sulfato de amônia, conforme indicações técnicas para o cultivo da canola (Tomm et al. 2009).

As gaiolas de polinização foram confeccionadas com tela de nylon de malha 2x2 mm, apoiadas por tubos de ¾ de polegada em PVC, formando gaiolas de 4 m de largura, 6 m de comprimento e 2 m de altura na parte mais alta, perfazendo uma área de 24 m<sup>2</sup> (Chiari et al. 2005) (Fig. 2).

As gaiolas foram montadas cinco dias antes da floração e desmontadas no término do período de florescimento, permitindo o pleno desenvolvimento vegetativo das plantas. No início do florescimento, as parcelas em gaiolas com abelhas receberam uma colônia de *A. mellifera* africanizada com cinco quadros, sendo três com cria e dois com alimento. Durante toda a floração, essas colônias receberam, individualmente, água potável e ½ L de xarope com concentração de açúcar em torno de 50% como complemento alimentar (Free 1993).

Na semeadura efetuada em 25/05/2011, o florescimento teve início em 24/07/2011 e 31/07/2011 e estendeu-se até 25/08/2011 e 01/09/2011, respectivamente, para os híbridos de canola Hyola 433 e Hyola 61. Quando a semeadura foi realizada em 25/06/2011, o florescimento teve início em 26/08/2011 e 03/09/2011 e estendeu-se até 27/09/2011 e 04/10/2011, respectivamente, para os genótipos Hyola 433 e Hyola 61.

A colheita foi realizada manualmente após observação do início da deiscência das síliquis. As plantas semeadas em 25/05/2011 foram colhidas aos 123 (28/09/2011) e aos 132 dias (07/10/2011), respectivamente, para os híbridos Hyola 433 e Hyola 61, enquanto na semeadura realizada em 25/06/2011, a colheita ocorreu aos 118

(23/10/2011) e aos 124 dias (01/11/2011), respectivamente, para os híbridos Hyola 433 e Hyola 61.

O rendimento de grãos (RG, kg.ha<sup>-1</sup>) foi estimado após a limpeza, classificação e pesagem dos grãos colhidos dos 4 m centrais das duas fileiras de plantas localizadas no centro de cada parcela, perfazendo 3,6 m<sup>2</sup>. O rendimento de grãos foi corrigido para 10% de umidade, que é a umidade de referência na comercialização e também indicada para armazenamento de curto prazo (Tomm et al. 2009). O teor de umidade das sementes foi determinado pelo método da estufa a 105°C ± 30°C durante 24h, com duas réplicas de cada unidade experimental (Brasil 2009).

Para a avaliação da massa de grãos por planta e estimativa de seus componentes, foram colhidas da área útil de cada parcela dez plantas aleatoriamente, a fim de compor a média das seguintes variáveis: a) massa de grãos por planta (em g planta<sup>-1</sup>), obtida pela pesagem dos grãos de cada planta individualmente; b) número de síliquas por planta (NSP, em unidade), obtido pela contagem das síliquas de dez plantas por tratamento, e c) número de grãos por síliqua (NGS, em unidade), obtido pela coleta ao acaso de 20 síliquas por tratamento.

As avaliações da massa de 1.000 grãos (MMG, em g), vigor e germinação de sementes foram efetuadas com base nas Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009). O teor de extrato etéreo foi quantificado pelo método de extração “a quente” em éter de petróleo PA, como solvente, com extrator Soxhlet, com duas réplicas por tratamento.

As análises estatísticas foram realizadas no software Statistical Analysis System (SAS 2012), sendo utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + H_i + E_j + P_k + Bl_l + HE_{ij} + HP_{ik} + EP_{jk} + HEP_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

em que:

$Y_{ijkl}$  = observação da média de cada parcela na cultivar  $i$ , na época de semeadura  $j$ , no teste de polinização  $k$  e no bloco  $l$ ;

$\mu$  = efeito da média geral;

$H_i$  = efeito de híbrido, para  $i = (1 \text{ e } 2)$ ;

$E_j$  = efeito de época de semeadura, para  $j = (1 \text{ e } 2)$ ;

$P_k$  = efeito de teste de polinização, para  $k = (1, 2 \text{ e } 3)$ ;

$Bl_l$  = efeito de bloco, para  $l = (1, 2, 3 \text{ e } 4)$ ;

$HE_{ij}$  = efeito da interação entre híbrido  $i$  e época de semeadura  $j$ ;

$HP_{ik}$  = efeito da interação entre híbrido  $i$  e teste de polinização  $k$ ;

$EP_{jk}$  = efeito da interação entre época de semeadura  $j$  e teste de polinização  $k$ ;

$HEP_{ijk}$  = efeito da interação entre híbrido  $i$ , época de semeadura  $j$  e teste de polinização  $k$ ;  
 $\varepsilon_{ijkl}$  = é o erro associado à observação  $ijkl$ .

Os dados referentes às variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância em esquema fatorial triplo. Para a comparação das médias entre a classe do fator teste de polinização sobre as variáveis analisadas, utilizou-se o teste de Student-Newman-Keuls. O efeito de híbrido e de época de semeadura sobre as variáveis respostas foi realizado empregando-se o teste F. Em ambas as análises adotou-se o nível de 5% de probabilidade.

## Resultados

O resumo da análise de variância dos valores de probabilidade ( $P$ ) relacionados às fontes de variação incluídas no modelo estatístico é apresentado na Tabela 1.

A massa de grãos por planta e grãos por siliqua foram significativamente afetadas pela interação tripla entre híbrido, época de semeadura e testes de polinização (Tabela 1). As massas de grãos por planta nas áreas livre e coberta por gaiolas com abelhas não diferiram entre si e foram maiores do que na área coberta por gaiola sem insetos, para os dois híbridos, quando semeados em 25/05/2011 (Polinização/época-1: Hyola 61;  $F = 24,07$ ; gl. = 2;  $P = 0,0002$ ; Polinização/época-1: Hyola 433;  $F = 14,54$ ; gl. = 2;  $P = 0,0015$ ) (Tabela 2).

Não houve diferença na massa de grãos por planta entre os testes de polinização para o híbrido Hyola 61, quando semeado em 25/06/2011 (Polinização/época-2: Hyola 61;  $F = 0,73$ ; gl = 2;  $P = 0,6283$ ). A massa de grãos por planta foi maior na área livre em comparação à área coberta por gaiola com abelhas e sem insetos, que não diferiram entre si, para o híbrido Hyola 433, quando semeado em 25/06/2011 (Polinização/época-2: Hyola 433;  $F = 11,28$ ; gl = 2;  $P = 0,003$ ) (Tabela 2).

A massa de grãos por siliqua na área livre e coberta por gaiola com abelhas não diferiu entre si e foi maior do que na área coberta por gaiola sem insetos, para os dois genótipos, nas duas épocas de semeadura, exceto para o híbrido Hyola 433, quando semeado em 25/05/2011 (Polinização/época-1: Hyola 61;  $F = 19,81$ ; gl =2;  $P = 0,0005$ ; Polinização/época-1: Hyola 433;  $F = 1,74$ ; gl =2;  $P = 0,2297$ ; Polinização/época-2: Hyola 61;  $F = 10,41$ ; gl =2;  $P = 0,0045$ ; Polinização/época-2: Hyola 433;  $F = 20,36$ ; gl = 2;  $P = 0,0004$ ) (Tabela 2).



Ainda, a massa de grãos por planta e de grãos por siliqua foi maior quando os híbridos de canola foram semeados em 25/05/2011 do que em 25/06/2011, exceto para o híbrido Hyola 61, que apresentou médias de massa de grãos por siliqua equivalentes entre as épocas de semeadura na área coberta por gaiola sem insetos (Época/gaiolas sem abelhas: Hyola 61;  $F = 4,28$ ,  $gl = 1$ ;  $P = 0,08$ ) (Tabela 2).

Não houve diferença na massa de grãos por planta entre os híbridos em cada teste de polinização e em ambas as épocas de semeadura, exceto para o genótipo Hyola 433 na área livre, que quando semeado em 25/06/2011, obteve maior média em comparação ao híbrido Hyola 61 (Híbrido/área livre: época-1;  $F = 0,53$ ,  $gl = 2$ ;  $P = 0,61$ ; Híbrido/gaiola sem insetos: época-1;  $F = 0,42$ ,  $gl = 2$ ;  $P = 0,67$ ; Híbrido/gaiola com abelhas: época-1;  $F = 0,44$ ,  $gl = 2$ ;  $P = 0,66$ ; Híbrido/área livre: época-2;  $F = 15,11$ ,  $gl = 2$ ;  $P = 0,001$ ; Híbrido/gaiola sem abelhas: época-2;  $F = 0,06$ ,  $gl = 2$ ;  $P = 0,94$ ; Híbrido/gaiola com abelhas: época-2;  $F = 0,02$ ,  $gl = 2$ ;  $P = 0,98$ ) (Fig. 3).

O número de grãos por siliqua e o rendimento de grãos não diferiram entre as áreas livre e coberta por gaiola com abelhas e foram maiores do que na área coberta por gaiolas sem insetos, em 25/05/2011 (Número de grãos por siliqua- polinização: época-1;  $F = 28,10$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ; Rendimento de grãos- polinização: época-1;  $F = 16,44$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ). A massa de 1.000 de grãos não diferiu entre as áreas cobertas com abelhas e sem insetos, entretanto, a área coberta sem insetos foi maior do que na área livre, na semeadura de 25/05/2011 (Massa de 1.000 grãos- polinização: época-1;  $F = 3,73$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,0345$ ) (Tabela 3).

O número de grãos por siliqua foi maior na área coberta com abelhas em comparação às áreas livre e coberta sem insetos, que também diferiram entre si, sendo menor na área coberta sem insetos, em 25/06/2011 (Número de grãos por siliqua- polinização: época-2;  $F = 59,79$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ). O rendimento de grãos não diferiu entre as áreas livre e coberta com abelhas e foi maior do que na área coberta sem insetos, em 25/06/2011 (Rendimento de grãos- polinização: época-2;  $F = 8,26$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,0012$ ). Não houve diferenças entre os testes de polinização para a massa de 1.000 grãos quando os genótipos foram semeados em 25/06/2011 (Massa de 1.000 grãos- polinização: época-2;  $F = 0,68$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,5112$ ) (Tabela 3).

O rendimento de grãos e a massa de 1.000 grãos foram maiores quando a semeadura foi realizada em 25/05/2011 do que em 25/06/2011, em cada teste de polinização, independentemente do híbrido estudado (Rendimento de grãos - época: área livre;  $F = 86,43$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; gaiola sem insetos;  $F = 73,34$ ;  $gl = 1$ ;

$P < 0,0001$ ; gaiola com abelha;  $F = 138,87$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; Massa de 1000 grãos-época: área livre;  $F = 83,35$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; gaiola sem insetos;  $F = 167,32$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; gaiola com abelha;  $F = 107,68$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 3).

Não houve diferença no número de grãos por siliqua entre as épocas de semeadura tanto nas áreas livre quanto nas cobertas por gaiola sem insetos, porém, houve diferença entre as épocas de semeadura na área coberta por gaiola com abelhas, ocorrendo maior número de grãos por siliqua em 25/06/2011, independentemente do híbrido avaliado (NGS- época: área livre;  $F = 2,86$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,1005$ ; gaiola sem abelhas;  $F = 3,58$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0671$ ; gaiola com abelhas;  $F = 7,33$ ;  $gl = 1$ ,  $P = 0,0107$ ) (Tabela 3).

A partir dos dados obtidos sobre o rendimento de grãos, pode-se estimar o valor da dependência da cultura da canola por abelhas africanizadas ( $D_{canola}$ ) nas duas épocas de semeadura, independentemente do híbrido avaliado, empregando-se a equação proposta por Robinson et al. (1989), como segue:  $D_{canola} = (Y_o - Y_c) / Y_o$ , sendo  $Y_o$  o rendimento de grãos ( $kg.ha^{-1}$ ) na área coberta com abelhas africanizadas e  $Y_c$  o rendimento de grãos ( $kg.ha^{-1}$ ) na área coberta sem insetos. Assim,  $D_{canola} = (1816,61 - 1216,76) / 1816,61 = 0,33$ , em resposta à semeadura de 25/05/2011 e  $D_{canola} = (436,14 - 213,51) / 436,14 = 0,51$ , em 25/06/2011. Portanto, houve maior dependência de presença de abelhas africanizadas na semeadura realizada em 25/06/2011.

O genótipo Hyola 433 teve número de síliquas por planta nas áreas livre (27,65%), coberta sem insetos (59,98%) e coberta com abelhas (15,18%) maior em comparação ao híbrido Hyola 61, independentemente da época de semeadura (híbrido: área livre;  $F = 12,71$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0011$ ; gaiola sem insetos;  $F = 37,71$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; gaiola com abelhas;  $F = 4,70$ ;  $P = 0,0375$ ) (Fig. 4).

O número de síliquas por planta não diferiu entre as áreas livre e coberta por gaiola com abelhas e foi maior do que na área coberta por gaiola sem insetos, para o híbrido Hyola 61, independentemente da época de semeadura (Polinização: Hyola 61;  $F = 8,44$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,0011$ ). Não houve diferença no número de síliquas por planta entre os testes de polinização para o genótipo Hyola 433, independentemente de época de semeadura (Polinização: Hyola 433;  $F = 0,003$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,9968$ ) (Fig. 4).

O genótipo Hyola 433 teve número de grãos por siliqua e teor de óleo maior do que o híbrido Hyola 61, quando semeado em 25/05/2011. Na semeadura de 25/06/2011, o híbrido Hyola 433 teve número de síliquas por planta, vigor e germinação maiores em relação ao genótipo Hyola 61. Por outro lado, o híbrido Hyola 61, quando semeado em 25/06/2011, teve massa de 1.000 grãos maior do que o híbrido Hyola 433. Não houve

diferença entre os híbridos para número de siliquas por planta, vigor, germinação e massa de 1.000 grãos quando foram semeados em 25/05/2011 e número de grãos por siliqua e teor de óleo quando a semeadura foi realizada em 25/06/2011 (Tabela 4).

O híbrido Hyola 61, quando semeado em 25/05/2011, teve número de siliquas por planta (160,07%), teor de óleo (8,57%), vigor (5,49%), germinação (5,43%) e massa de 1.000 grãos (29,86%) maior do que em resposta à semeadura de 25/06/2011 (época/Hyola 61: NSP:  $F = 185,12$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; TO:  $F = 7,98$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0080$ ; VG:  $F = 10,21$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0031$ ; GER:  $F = 14,13$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0007$ ; MMG:  $F = 128,79$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 4).

O genótipo Hyola 433, quando semeado em 25/05/2011, teve número de siliquas por planta (45,67%), teor de óleo (5,55%) e massa de 1000 grãos (43,83%) maior em comparação à semeadura de 25/06/2011 (época/Hyola 433: NSP:  $F = 56,0$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; TO:  $F = 32,81$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; MMG:  $F = 229,22$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ). Não houve efeito entre as épocas de semeadura para vigor e germinação para o genótipo Hyola 433 (época/Hyola 433: VG:  $F = 0,05$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,8326$ ; GER:  $F = 0,08$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,7776$ ) (Tabela 4).

### Discussão

A canola é uma espécie considerada predominantemente autopolinizável, com um rendimento de grãos satisfatório na ausência de insetos polinizadores (Eisikowitch 1981, Mesquida et al. 1988, Mussury e Fernandez 2000, Hoyle et al. 2007).

Portanto, a hipótese era que quantidades suficientes de grãos de pólen depositados sobre o estigma da mesma flor, na área coberta sem insetos, proporcionassem massa de grãos por planta, de grãos por siliqua, número de grãos por siliqua e rendimento de grãos equivalentes às das áreas livre e coberta com abelhas. Porém isso não ocorreu.

Os dados obtidos indicaram que nas áreas livre e coberta com abelhas, a massa de grãos por planta foi 56,31% e 60,35% e de grãos por siliqua 47,76% e 44,47%, respectivamente, maior ( $P < 0,05$ ) em relação à área coberta sem insetos, para o híbrido Hyola 61, em 25/05/2011. O híbrido Hyola 433 apresentou massa de grãos por planta 40,38% e 44,73% maior ( $P < 0,05$ ) nas áreas livre e coberta com abelhas, respectivamente, em comparação à área coberta sem insetos, em 25/05/2011.

Ainda, a massa de grão por planta foi 25,64% e 46,72% maior ( $P < 0,05$ ) nas áreas livre e coberta com abelhas, respectivamente, em relação à área coberta sem

insetos, para o genótipo Hyola 61, em 25/06/2011. Para o híbrido Hyola 433, a massa de grãos por siliqua foi 83,67% e 77,96% maior ( $P < 0,05$ ) nas áreas livre e coberta com abelhas, respectivamente, do que na área coberta sem insetos, em 25/06/2011.

Nas áreas livre e coberta com abelhas, o número de grãos por siliqua foi 21,73% e 19,86% e o rendimento de grãos 46,16% e 49,30%, respectivamente, maior ( $P < 0,05$ ) do que na área coberta sem insetos, em 25/05/2011. O número de grãos por siliqua foi 10,76% e 37,09% maior ( $P < 0,05$ ) na área coberta com abelhas em relação à área livre e coberta sem insetos, respectivamente, em 25/06/2011. O rendimento de grãos foi 222,90% e 104,27% maior ( $P < 0,05$ ) nas áreas livre e coberta com abelhas, respectivamente, em relação à área coberta sem insetos, em 25/06/2011.

Resultados similares também foram obtidos em *B. napus* quando a cultura foi polinizada por *A. mellifera* (Sabbahi et al. 2005, Abrol 2007, Araneda-Durán 2010, Rosa et al. 2011, Abrol e Shankar 2012).

Na área coberta sem insetos, apenas a autopolinização deve ter ocorrido. Contudo, possivelmente a deposição de pólen sobre o estigma da mesma flor deve ter sido insuficiente para a fecundação de todos os óvulos da flor ou o pólen não entrou em contato com o estigma no momento em que ele estava receptivo.

A falta de sincronização entre a receptividade do estigma e a disponibilidade do pólen viável (DeGrandi-Hoffman e Chambers 2006), bem como a ausência de sacos embrionários completos na abertura da flor (Wang et al. 2009), são apontados como os principais fatores relacionados à menor produção de sementes pela autopolinização (DeGrandi-Hoffman e Chambers 2006).

Portanto, os resultados constituem evidência de que a polinização cruzada, realizada pelas abelhas africanizadas, é eficiente para elevar os índices produtivos da cultura na canola.

A não diferença estatística entre as áreas livre e coberta com abelhas para os componentes produtivos avaliados, possivelmente ocorreu em decorrência da presença de um apiário com seis colônias de abelhas africanizadas a, aproximadamente, 1 km da área experimental. A densidade de abelhas africanizadas nas áreas livres em decorrência da proximidade do apiário foi suficiente para uma produção similar às das áreas cobertas com abelhas.

Houve maior incremento proporcional no rendimento de grãos nas áreas livre e coberta com abelhas em comparação à área coberta sem insetos, em resposta à semeadura realizada em 25/06/2011 do que em 25/05/2011, pois na semeadura realizada

em 25/05/2011, o rendimento de grãos na área livre tenha sido 157,98%, na coberta sem insetos 469,88% e na coberta com abelhas 316,52% maior ( $P < 0,05$ ) do que em resposta à semeadura efetuada em 25/06/2011 (Tabela 3). Isso pode ter ocorrido em razão das condições climáticas terem sido mais propícias aos polinizadores em resposta à semeadura realizada em 25/06/2011.

A polinização por abelhas depende das condições climáticas, pois essas afetam tanto a cultura quanto as abelhas (Abrol 2007). As abelhas africanizadas coletam néctar ativamente entre temperaturas de 15,48 e 31,09°C, e umidade relativa do ar entre 43,13 e 92,70%. Para pólen, as temperaturas ideais encontram-se entre 15,48 e 27,61°C, e a umidade relativa do ar ideal entre 45,00 e 89,50% (Malerbo-Souza e Silva 2011).

Neste estudo, a temperatura esteve mais próxima das faixas ideais para as abelhas africanizadas no segundo período de florescimento. Apesar de a temperatura do ar ter sido mais elevada durante o florescimento dos híbridos semeados em 25/06/2011, menos satisfatória para o cultivo da canola em relação à temperatura registrada durante o florescimento dos híbridos semeados em 25/05/2011, a polinização entomófila atenuou, pelo menos em parte, as limitações sobre o rendimento de grãos, possivelmente causados pela maior temperatura e baixa precipitação pluviométrica em setembro (Fig. 1).

A despeito da dependência da cultura por *A. mellifera* africanizada de 0,33 e de 0,51, respectivamente, em 25/05/2011 e 25/06/2011, a canola consegue em condições mais propícias para o seu desenvolvimento, como em 25/05/2011, ter maior taxa de autopolinização, embora a presença de abelhas africanizadas aumente significativamente os índices produtivos da cultura.

Quase todo o pólen produzido nas anteras das flores de canola é liberado logo após a abertura completa da flor (Mussury e Fernandez 2000, Abrol 2007) e altas temperaturas na antese podem limitar o crescimento do tubo polínico (Prasad et al. 2001, Kakani et al. 2005) e a degeneração do pólen (Nava et al. 2009), limitando o processo de autopolinização.

Possivelmente, o pólen produzido e depositado no estigma da mesma flor não era totalmente íntegro por causa das temperaturas mais elevadas, limitando a autopolinização durante o segundo período de florescimento. Essa limitação na fertilização de todos os óvulos da flor por autopolinização deve ter favorecido o processo de polinização cruzada e, por conseguinte, maior dependência da cultura por abelhas, especialmente em 25/06/2011.

Entretanto, deve-se considerar que embora os híbridos tenham maior dependência por abelhas quando semeados em 25/06/2011, o rendimento de grãos neste período é significativamente menor em comparação à semeadura realizada em 25/05/2011, não justificando o plantio no final de junho.

A análise dos resultados revelou que a interação híbrido e época de semeadura foi significativa ( $P < 0,05$ ) para todas as variáveis respostas analisadas, exceto para rendimento de grãos (Tabela 1), indicando que ocorreram diferentes respostas dos híbridos em relação às épocas de semeadura efetuadas. Os dois híbridos avaliados tiveram melhor desempenho quando semeados em 25/05/2011 do que em 25/06/2011.

Os parâmetros produtivos e de qualidade de sementes tendem a decrescer com o atraso na semeadura após meados de abril (Tomm et al. 2004). Após a antese, cada aumento em 1°C na temperatura pode desencadear perdas no rendimento de grãos de até 289 kg.ha<sup>-1</sup> (Si e Walton 2004).

O genótipo Hyola 433 teve número de grãos por siliqua (17,65%) e teor de óleo (10,52%) maior do que o híbrido Hyola 61, quando semeados em 25/05/2011. Na semeadura de 25/06/2011, o híbrido Hyola 433 teve número de síliquas por planta (93,89%), vigor (5,49%) e germinação (5,43%) maior em relação ao genótipo Hyola 61 (Tabela 4).

A semeadura realizada a partir do fim de abril a início de junho favorece o desempenho de genótipos de ciclo precoce, como o híbrido Hyola 433, pois as precipitações pluviométricas em setembro são limitadas, comprometendo mais o rendimento de híbridos de ciclo médio e/ou tardio, como, por exemplo, o Hyola 61 (Tomm et al. 2003), embora esse possa ter maior potencial produtivo em algumas situações (Tomm et al. 2010).

O genótipo Hyola 433, de ciclo curto, possivelmente sofreu menos por causa das condições climáticas, especialmente as baixas precipitações pluviométricas de setembro em comparação ao híbrido de ciclo médio Hyola 61 (Fig. 1). Além disso, o híbrido Hyola 433 é indicado para solos de elevada fertilidade (Tomm et al. 2009), característica observada nos solos da região estudada.

Além disso, as condições climáticas durante o período de florescimento podem influenciar a secreção de néctar durante o dia e, isso pode variar dependendo da cultivar (McGregor 1972, Free 1993, Delaplane e Mayer 2000). As cultivares menos tolerantes ao calor podem diminuir a quantidade ou concentração de néctar secretado, bem como a disponibilidade do pólen ao longo do dia e suas flores tornarem-se menos atrativas aos

polinizadores, apesar de uma densidade de insetos satisfatória, limitando o processo de polinização cruzada e, acarretando menor produção (Chambó et al. 2011).

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) de polinização para teor de óleo em sementes, vigor, germinação e massa de 1.000 grãos, sugerindo que essas variáveis não foram influenciadas pela polinização entomófila (Tabela 1).

Não houve diferença significativa entre áreas livres à visitação por insetos, áreas cobertas com abelhas e sem abelhas para massa de 1.000 grãos e vigor de sementes em *Ademia latifolia* (Camacho et al. 2008) e para taxa de germinação de sementes em *Glycine max* (Chiari et al. 2008). Por outro lado, em canola (cv. OAC Triton), a presença de abelhas aumentou a capacidade de germinação das sementes de 83% a 96% (Kevan e Eisikovitch 1990).

Assim, embora os insetos não influenciem diretamente nas características relacionadas à qualidade fisiológica das sementes por estarem relacionadas aos fatores fisiológicos da própria planta e das condições climáticas, em algumas situações isso pode ocorrer, promovendo aumento para essas características (Camacho et al. 2008, Chiari et al. 2011, Toledo et al. 2011).

Os dados obtidos constituíram evidência de que o processo de polinização cruzada em canola realizada por *A. mellifera* africanizada é eficiente para melhorar os índices produtivos da cultura. A produção dos híbridos avaliados pode ser aumentada em termos de seus componentes produtivos com a semeadura em 25/05/2011 em relação a 25/06/2011, bem como os híbridos podem ter suas perdas produtivas compensadas, pelo menos em parte, pela polinização realizada pelas abelhas quando a temperatura é mais elevada e, por conseguinte, menos propícia ao desenvolvimento da cultura, como constatado na semeadura realizada em 25/06/2011.

### Referências Citadas

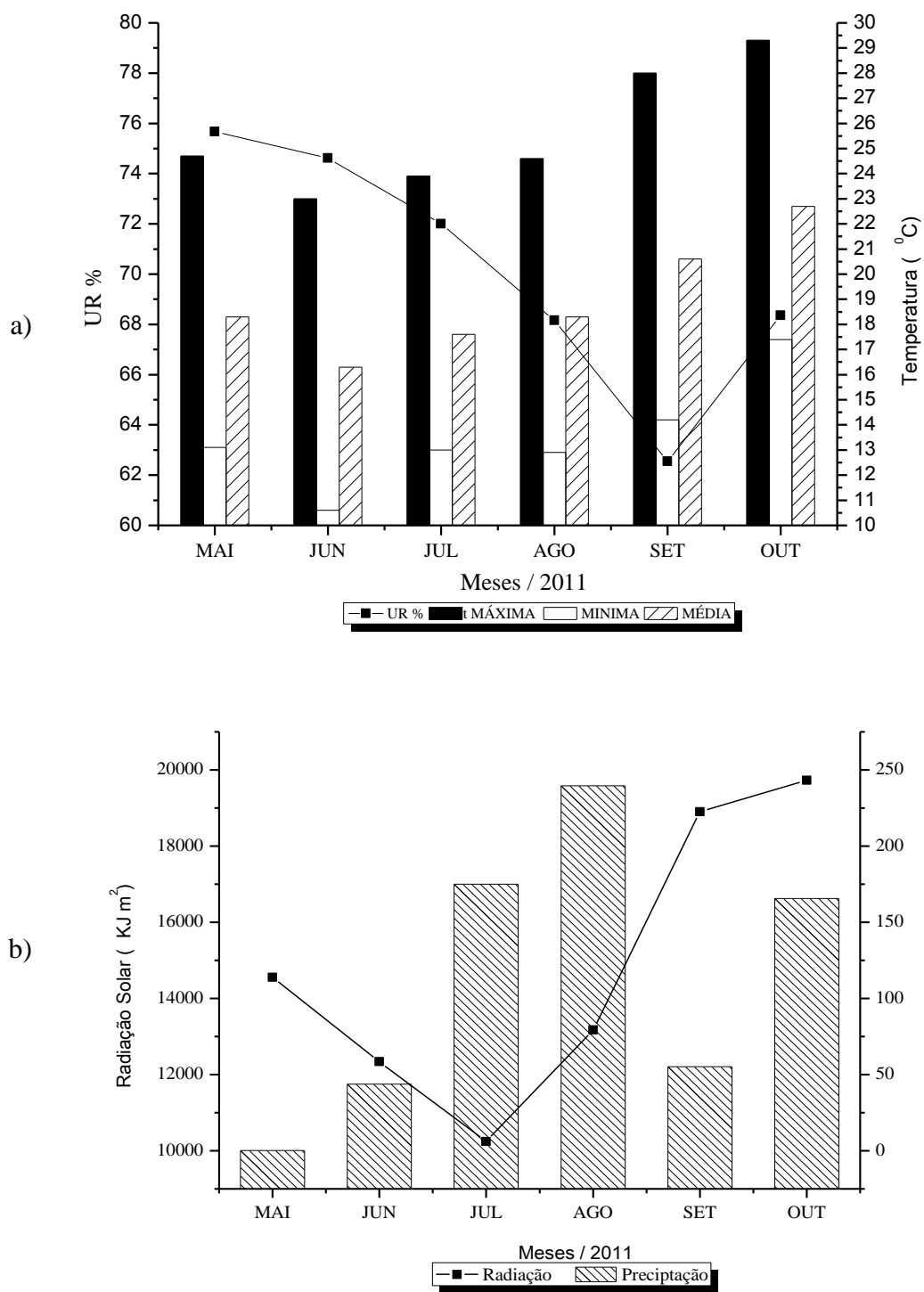
- Abrol, D. P. 2007.** Honeybees and rapeseed: a pollinator-plant interaction. *Adv. Bot. Res.* 45: 337-367.
- Abrol, D. P. 2012.** *Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production.* Springer, New York, NY.
- Abrol, D. P., and U. Shankar. 2012.** Pollination in oil crops: recent advances and future strategies, p. 221-267. *In* S. K. Gupta (ed.), *Technological innovations in major world oil crops*, vol. 2. Springer, New York, NY.
- Araneda-Durán, X. A., R. B. Ulloa, J. A. Carrillo, J. L. Contreras, and M. T. Bastidas. 2010.** Evaluation of yield component traits of honeybee-pollinated (*Apis mellifera* L.) rapeseed canola (*Brassica napus* L.). *Chil. J. Agric. Res.* 70: 309-314.

- Becker, H. C., C. Damgaard, and B. Karlsson. 1992.** Environmental variation for outcrossing rate in rapeseed (*Brassica napus*). *Theor. Appl. Genet.* 84: 303-306.
- (Brasil) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009.** Regras para análise de sementes. SNDA/DNDV/CLAV, Brasília, DF.
- Camacho, J. C. B., and L. B. Franke. 2008.** Efeito da polinização sobre a produção e qualidade de sementes de *Adesmia latifolia*. *Rev. Bras. Sementes* 30: 81-90.
- Chambó, E. D., R. C. Garcia, N. T. E. Oliveira, and J. B. Duarte-Júnior. 2011.** Honey bee visitation to sunflower: effects on pollination and plant genotype. *Sci. Agric.* 68: 647-651.
- Chiari W. C., V. A. A. T. Toledo, M. C. C. Ruvulo-Takasusuki, A. J. B. Oliveira, E. S. Sakaguti, V. M. Attencia, F. C. Costa, M. H. Mitsui. 2005.** Pollination of soybean (*Glycine max* L. Merrill) by honeybees (*Apis mellifera* L.). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48: 31-36.
- Chiari, W. C., V. A. A. Toledo, C. B. Hoffmann-Campo, M. C. C. Ruvulo-Takasusuki, T. C. S. O. A. Toledo, and T. S. Lopes. 2008.** Polinização por *Apis mellifera* em soja transgênica [*Glycine Max* (L.) Merrill] Roundup Ready<sup>tm</sup> cv. BRS 245 RR e convencional cv. BRS 133. *Acta Sci., Agron.* 30: 267-271.
- Chiari, W. C., M. C. C. Ruvulo-Takasusuki, E. D. Chambó, C. A. Arias, C. B. Hoffmann-Campo, and V. A. A. Toledo. 2011.** Gene flow between conventional and transgenic soybean pollinated by honeybees, pp. 137-152. In M. N. A. G. Hasaneen (ed.), *Herbicides: mechanisms and mode of action*. InTech, Rijeka, Croatia. (<http://www.intechopen.com/books/herbicides-mechanisms-and-mode-of-action/gene-flow-between-conventional-and-transgenic-soybean-pollinated-by-honeybees>).
- (CFIA) Canadian Food Inspection Agency. 1999.** The biology of *Brassica napus*. Plant Biosafety Office, Ontario, Canadá.
- (CONAB) Companhia Nacional de Abastecimento. 2012.** Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento, maio 2012. Conab, Brasília, DF.
- DeGrandi-Hoffman, G., and M. Chambers. 2006.** Effects of honey bee (Hymenoptera: Apidae) foraging on seed set in self-fertile sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Environ. Entomol.* 35: 1103-1108.
- Delaplane, K. S., and D. F. Mayer. 2000.** Crop pollination by bees. CABI Publishing, New York, NY.
- Eisikowitch, D. 1981.** Some aspects of pollination of oil-seed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agric. Sci.* 96: 321-326.
- (EMBRAPA) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 1999.** Sistema brasileiro de classificação de solos. Embrapa solos, Rio de Janeiro, RJ.
- Free, J. B. 1993.** Insect pollination of crops, 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, London, UK.
- Hoyle, M., K. Hayter, and J. E. Cresswell. 2007.** Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecol. Appl.* 17: 2123-2135.
- Kakani, V. G., K. R. Reddy, S. Koti, T. P. Wallace, P. V. V. Prasad, V. R. Reddy, and D. Zhao. 2005.** Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. *Ann. Bot.* 96: 59-67.
- Kevan, P. G., and D. Eisikowitch. 1990.** The effects of insect pollination on canola (*Brassica napus* L. cv. O.A.C. Triton) seed germination. *Euphytica* 45: 39-41.
- McGregor, S. E. 1976.** Insect pollination of cultivated crop plants. USDA, Washington, D.C..
- Malerbo-Souza, D. T., and F. A. S. Silva. 2011.** Comportamento forrageiro da abelhas africanizada *Apis mellifera* L. no decorrer do ano. *Acta Sci., Anim. Sci.* 33: 183-190.



- Mesquida, J., M. Renard, and J. S. Pierre. 1988.** Rapeseed (*Brassica napus* L.) productivity the effect of honeybees (*Apis mellifera* L.) and different pollination conditions in cage and field tests. *Apidologie* 19: 51-72.
- Morandin, L. A., and M. L. Winston. 2005.** Wild bee abundance and seed production in conventional, organic, and genetically modified canola. *Ecol. Appl.* 15: 871-881.
- Morrison, M. J., and D. W. Stewart. 2002.** Heat stress during flowering in Summer Brassica. *Crop Sci.* 42: 797-803.
- Mussury, R. M., and W. D. Fernandes. 2000.** Studies of the floral biology and reproductive system of *Brassica napus* L. (Cruciferae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 43: 0-0.
- Nava, G. A., G. A. B. Marodin, and R. P. Santos. 2009.** Reprodução do pessegueiro: efeito genético, ambiental e de manejo das plantas. *Rev. Bras. Frutic.* 31: 1218-1233.
- (OGTR) Office of the Gene Technology Regulator. 2011.** Biology of *Brassica napus* L. (Canola). OGTR, Australian.
- Pierre, J., B. Vaissière, P. Vallée, and M. Renard. 2010.** Efficiency of airborne pollen released by honeybee foraging on pollination in oilseed rape: a wind insect-assisted pollination. *Apidologie* 4: 109-115.
- Prasad, P. V. V., P. Q. Crauford, V. G. Kakani, T. R. Wheeler, and K. Boote. 2001.** Influence of high temperature during pre- and post-anthesis stages of floral development on fruit-set and pollen germination in peanut. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 233-240.
- Robinson, W. S., R. Nowogrodzki, and R. A. Morse. 1989.** The value of honey-bees as pollinators of U.S. crops. *Am. Bee J.* 129: 411-423.
- Rosa, A. D. S., B. Blochtein, and D. K. Lima. 2011.** Honey bee contribution to canola pollination in Southern Brazil. *Sci. Agric.* 68: 255-259.
- Sabbahi, R., D. Oliveira, and J. Marceau. 2005.** Influence of honey bee (Hymenoptera: Apidae) density on the production of canola (Cruciferae: Brassicaceae). *J. Econ. Entomol.* 98: 367-372.
- SAS Institute. 2012.** SAS/STAT user's guide, version 9.3. SAS Institute, Cary, NC.
- Si, P., and G. H. Walton. 2004.** Determinants of oil concentration and seed yield in canola and Indian mustard in the lower rainfall areas of Western Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 55: 367-377.
- Thomas, P. 2003.** Canola growers manual. Canola Council of Canada, Winnipeg, Canadá.
- Thomson, J. D., and K. Goodell. 2002.** Pollen removal and deposition by honeybee and bumblebee visitors to apple and almond flowers. *J. Appl. Ecol.* 38: 1032-1044.
- Toledo, V. A. A., E. D. Chambó, A. L. Halak, P. Faquinello, R. S. Parpinelli, K. R. Ostrowski, A. P. B. Casagrande, M. C. C. Ruvolo-Takasusuki. 2011.** Biologia floral e polinização em girassol (*Helianthus annuus* L.) por abelhas africanizadas. *Sci. Agrar. Parana.* 10: 5-17.
- Tomm, G. O., M. R. P. Mendes, J. R. Gomes, G. Buzza, B. Swann, and B. Smallridge. 2003.** Comportamento de genótipos de canola em Maringá em 2003. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.
- Tomm, G. O., M. Garrafa, V. Benetti, A. A. Wolbolt, and E. Figer. 2004.** Efeito de épocas de semeadura sobre o desempenho de genótipos de canola em Três de Maio, RS. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.
- Tomm, G. O., S. Wiethölter, A. A. Dalmago, and H. P. Santos. 2009.** Tecnologia para produção de canola no Rio Grande do Sul. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

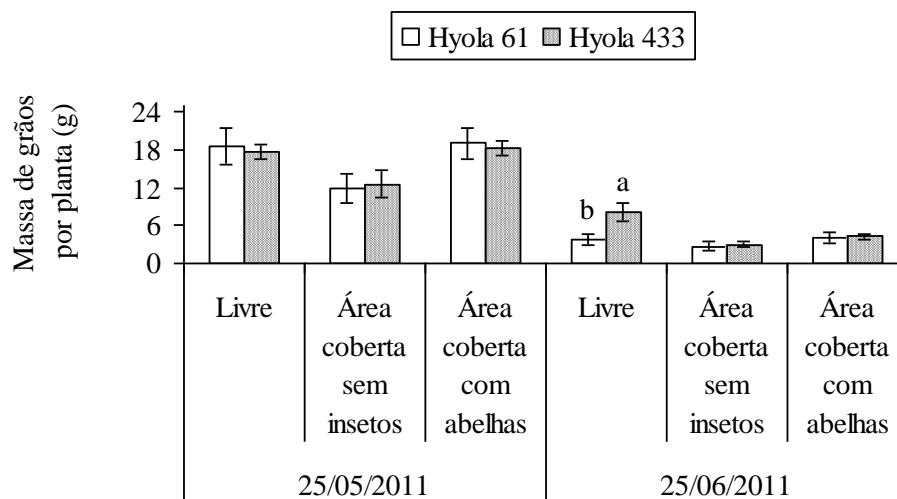
- Tomm, G. O., M. R. P. Mendes, A. C. Fadoni, and G. R. Cunha. 2010.** Efeito de épocas de semeadura sobre o desempenho de genótipos de canola de ciclo precoce e médio, em Maringá, Paraná. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.
- (USDA) United States Department of Agriculture. 2012.** World agricultural production. USDA, Washington, D.C. (<http://usda01.library.cornell.edu/usda/fas/worldag-roduction//2010s/2011/worldag-production-05-11-2011.pdf>).
- Wang, X., A. Mathieu, P. H. Cournède, J. M. Allirand, A. Jullien, P. Reffye, and B. G. Zhang. 2009.** Stochastic models in floral biology and its application to the study of oilseed rape (*Brassica napus* L.) fertility, pp. 175-182. *In* B. Li, Y. Guo, and M. Jaeger (Eds.), Proceedings, Symposium: the Third International Symposium on Plant Growth Modeling, Simulation, Visualization and Applications (PMA 09), 9-13 November 2009, Beijing, China.
- Wilcock, C., and R. Neiland. 2002.** Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends Plant Sci.* 7: 270-277.
- Williams, I. H., A. P. Martin, and R. P. White. 1987.** The effect of insect pollination on plant development and seed production in winter oil-seed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agric. Sci.* 109: 135-139.



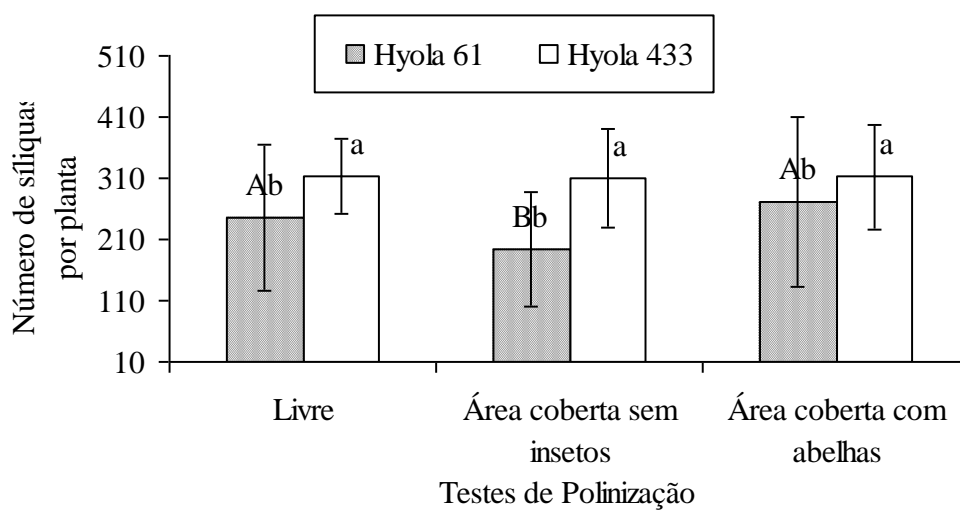
**Fig. 1.** Dados meteorológicos referentes ao período de maio/2011 a outubro/2011 na área experimental no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. (a) UR (%) - umidade relativa, Temperatura máxima, mínima e média (°C). (b) Precipitação (mm) e Radiação solar (kJ. m<sup>2</sup>).



**Fig. 2.** Área experimental com as gaiolas de polinização.



**Fig. 3.** Massa de grãos por planta (g) de híbridos de canola em resposta às épocas de semeadura e testes de polinização. As letras minúsculas diferentes em cada teste de polinização diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ ).



**Fig. 4.** Número de siliques por planta entre teste de polinização e híbrido, independentemente de época de semeadura. Colunas seguidas por letras minúsculas diferentes entre híbridos em cada teste de polinização diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ ). Colunas seguidas por letras maiúsculas diferentes entre os testes de polinização em cada híbrido diferem pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 1.** Resumo da probabilidade de significância da análise de variância inicial para cada variável resposta analisada

Variável	Híbrido	Época	Polinização	Híbrido x Época	Híbrido x Polinização	Época x Polinização	Híbrido x Época x Polinização
MGP	NS	C	c	a	NS	b	a
MGS	NS	C	c	c	NS	NS	b
NGS	c	NS	c	c	NS	b	NS
RG	b	C	c	NS	NS	a	NS
MMG	a	C	NS	a	NS	a	NS
NSP	c	C	a	c	a	NS	NS
TO	b	C	NS	a	NS	NS	NS
VG	a	A	NS	a	NS	NS	NS
GER	a	A	NS	a	NS	NS	NS

<sup>a</sup> $P < 0,05$ ; <sup>b</sup> $P < 0,005$ ; <sup>c</sup> $P < 0,0001$ ; NS - não significativo. MGP – massa de grãos por planta, MGS – massa de grãos por síliqua, NGS – número de grãos por síliqua, RG – rendimento de grãos, MMG – massa de 1.000 grãos, NSP – número de síliquas por planta, TO – teor de óleo, VG – vigor e GER – germinação.

**Tabela 2.** Valores médios e desvios-padrão de massa de grãos por planta (MGP) e massa de grãos por síliqua (MGS) por combinação entre polinização, híbrido e época de semeadura, em Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil

Variável	Polinização	Hyola 61		Hyola 433	
		Época 25/05/2011	Época 25/06/2011	Época 25/05/2011	Época 25/06/2011
MGP (g)	Livre	18,57 Aa ±2,96	3,78 B ±0,76	17,73 Aa ±1,24	8,27 Ba ±1,45
	Área coberta sem insetos	11,88 Ab ±2,40	2,76 B ±0,61	12,63 Ab ±2,16	3,03 Bb ±0,49
	Área coberta com abelhas	19,05 Aa ±2,47	4,09 B ±0,96	18,28 Aa ±1,14	4,26 Bb ±0,34
MGS (g)	Livre	0,0628 Aa ±0,0050	0,0441 Ba ±0,0050	0,0658 A ±0,0058	0,0450 Ba ±0,0049
	Área coberta sem insetos	0,0425 b ±0,0083	0,0351 b ±0,0057	0,0594 A ±0,0051	0,0245 Bb ±0,0044
	Área coberta com abelhas	0,0614 Aa ±0,0007	0,0515 Ba ±0,0084	0,0642 A ±0,0071	0,0436 Ba ±0,0041

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre os testes de polinização em cada combinação híbrido e época de semeadura pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ). Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha são significativamente diferentes entre as épocas de semeadura em cada combinação híbrido e polinização, pelo teste F, a 5% de significância. Médias obtidas a partir de quatro observações.



**Tabela 3.** Valores médios e desvios-padrão do número de grãos por síliqua, rendimento de grãos e massa de 1.000 grãos por combinação entre testes de polinização e época de semeadura, em Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil

Época de semeadura	Testes de Polinização	Variável (média $\pm$ dp) <sup>1</sup>		
		Número de grão por síliqua (un)	Rendimento de grãos (kg.ha <sup>-1</sup> )	Massa de 1.000 grãos (g)
25/05/11	Livre	19,6 a $\pm 1,96$	1778,46 Aa $\pm 335,30$	3,2629 Ab $\pm 0,1418$
	Área coberta sem insetos	16,1 b $\pm 2,02$	1216,76 Ab $\pm 308,26$	3,4816 Aa $\pm 0,1729$
	Área coberta com abelhas	19,3 Ba $\pm 1,78$	1816,61 Aa $\pm 289,35$	3,3204 Aab $\pm 0,1982$
25/06/11	Livre	18,7 b $\pm 1,74$	689,38 Ba $\pm 372,32$	2,5054 B $\pm 0,2366$
	Área coberta sem insetos	15,1 c $\pm 1,31$	213,51 Bb $\pm 95,14$	2,4083 B $\pm 0,2390$
	Área coberta com abelhas	20,7 Aa $\pm 1,22$	436,14 Ba $\pm 149,43$	2,4593 B $\pm 0,1586$

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre os testes de polinização em cada época de semeadura, pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ). Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si entre as épocas de semeadura em cada teste de polinização, como determinado pelo teste F, a 5% de significância. <sup>1</sup>Médias obtidas a partir de oito observações.

**Tabela 4.** Valores de F com a probabilidade, médias e seus respectivos desvios-padrão de número de grãos por síliqua (NGS), número de síliquas por planta (NSP), teor de óleo (TO), vigor (VG), germinação (GER) e massa de 1.000 grãos (MMG) por combinação entre híbridos de canola e época de semeadura, em Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil

Híbrido	Época	Variável (média ± dp) <sup>1</sup>					
		NGS	NSP	TO (%)	VG (%)	GER (%)	MMG (g)
F		41,79	3,19	13,03	0,10	0,03	0,11
<i>P</i> -valor		<0,0001	0,0833	0,0010	0,7513	0,8654	0,7449
Hyola 61	25/05/11	17 b	342 A	38 Ab	96 A	97 A	3,3438 A
		±2,09	±65,45	±3,42	±2,68	±2,56	±0,1836
Hyola 433		20 a	370 A	42 Aa	97	97	3,3661 A
		±2,03	±47,61	±1,85	±2,02	±1,54	±0,2038
F		0,13	62,55	0,50	10,90	13,28	11,99
<i>P</i> -valor		0,7186	<0,0001	0,4851	0,0023	0,0009	0,0015
Hyola 61	25/06/11	18	131 Bb	35 B	91 Bb	92 Bb	2,5750 Ba
		±2,64	±27,52	±1,97	±4,46	±4,72	±0,1725
Hyola 433		18	254 Ba	36 B	96 a	97 a	2,3403 Bb
		±2,97	±39,75	±2,54	±4,63	±4,09	±0,1778

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre os híbridos pelo teste F ( $P < 0,05$ ) em época de semeadura. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre as épocas pelo teste F ( $P < 0,05$ ) em cada híbrido. <sup>1</sup>Médias obtidas a partir de 12 observações.

#### IV – Biologia Floral e Aspectos Reprodutivos em Canola (*Brassica napus* L.)

**RESUMO** Objetivou-se estudar a biologia e morfologia floral da canola (*Brassica napus* L.), bem como verificar a fertilidade feminina dos híbridos de canola Hyola 61 e 433 em resposta a duas épocas de semeadura (25/05/2011 e 25/06/2011). Analisou-se a morfologia, receptividade do estigma, viabilidade e a germinabilidade do pólen, áreas de emissão de odor e a constância das abelhas africanizadas às flores. A fertilidade feminina foi estudada considerando as duas épocas de semeadura. As flores da canola são hermafroditas e estão dispostas em inflorescências racemosas, com duração de 48 horas. O ovário possui, em média,  $24,72 \pm 2,8$  óvulos. As pétalas medem  $14,75 \pm 0,96$  mm de comprimento e  $7,81 \pm 0,77$  mm de diâmetro. As flores mais jovens, com idade entre 3 e 9 horas e 24 e 33 horas apresentam grãos de pólen com capacidade de emissão de tubo polínico e receptividade do estigma maior ( $P < 0,05$ ) em relação ao estágio de botão em pré-antese e flores de idade entre 48 e 51 horas. A viabilidade do pólen presente na corbícula das abelhas africanizadas foi de 97%. Osmóforos foram localizados por toda a corola e anteras. As flores dos híbridos Hyola 61 e 433 são protandricas e possuem mecanismos para ocorrência de alogamia. Há um mecanismo reprodutivo misto em *B. napus*, haja vista a ampla flexibilidade reprodutiva da espécie, com uma taxa significativa de desenvolvimento de óvulos em sementes, mesmo na ausência de polinização cruzada.

**PALAVRAS-CHAVE:** abelhas africanizadas, razão semente por óvulo, morfologia floral, *Brassicaceae*

**ABSTRACT** The objective was to study the biology and the floral morphology of rapeseeds (*Brassica napus* L.), as well as to verify the female fertility of the rapeseed hybrids Hyola 61 and 433 in response of two distinct sowing dates (05/25/2011) and 06/25/2011). We analyzed the morphology, stigma receptivity, feasibility and pollen germinability, scent releasing areas, and how often the Africanized bees visited the flowers. Female fertility was also studied considering the two sowing dates. Rapeseed flowers are hemaphroditic and are arranged in racemose inflorescences, with duration of 48 hours. The ovary has, on average, between  $24.72 \pm 2.8$  ovules. The petals measure between  $14.75 \pm 0.96$  mm of length and  $7.81 \pm 0.77$  mm of diameter. The youngest flowers, aging between 3 and 9 hours and 24 and 33 hours have pollen grains with the

ability to release the pollen tube and larger stigma capacity ( $P < 0.05$ ) in relation to the button stage in pre-antheses and flowers between 48 and 51 hours old. Pollen viability present in the corbícula of Africanized honeybees was 97%. Osmophores were found on the entire corolla and anthers. The flowers of the hybrids Hyola 61 and 433 are protandric and have mechanisms that allow the occurrence of allogamy. The data suggest the occurrence of a mixed reproductive mechanism in *B. napus*, considering the ample reproductive flexibility of the species, with a significant rate of ovule development in seeds, even when there is no cross-pollination.

**KEY WORDS:** Africanized honeybees, ratio seed per ovule, floral morphology, *Brassicaceae*

## Introdução

A canola (*Brassica napus* L.), um membro da família Brassicaceae, é a terceira maior “commoditie” mundial (CONAB 2011). O seu cultivo se deve principalmente pelas suas sementes, na qual produzem entre 35% a 45% de óleo. O principal emprego da canola é como óleo de cozinha, mas também é comumente usado na margarina. O farelo de canola é produzido como um subproduto durante a extração do óleo das sementes e utilizado como fonte de alto teor de proteína destinado à alimentação animal (OGTR 2011). A canola é uma excelente alternativa para rotação de culturas com gramíneas e leguminosas, além de inserir-se adequadamente nos sistemas de cultivo que predominam no Sul do Brasil (Dalmago et al. 2008).

A canola possui flores entomófilas capazes de autopolinização e polinização cruzada, embora a fertilização dos seus óvulos geralmente seja resultado da autopolinização, uma vez que na floração da cultura cada flor produz grande quantidade de pólen (Williams et al. 1987, Hoyle et al. 2007). No entanto, pouca atenção foi dada aos aspectos relacionados a biologia floral dessa cultura, que contribui intensamente para a produção de grãos e frutos, pois por meio da polinização cruzada, especialmente realizada por insetos polinizadores, os aspectos quantitativos (aumento da produção) e qualitativos são melhorados (Vieira et al. 2002).

Na cultura da canola, a produção de grãos pela autopolinização pode ser limitada em decorrência de processos dicogâmicos (Rosa et al. 2010). Ainda, em flores de canola foi relatada a ocorrência de mecanismos para ocorrência de alogamia, como pólen abundante, néctar e odor (Mussury e Fernandez 2000).

O pólen da canola, como em todas as plantas da família Brassicaceae, é revestido por um muco pegajoso, constituído basicamente por uma mistura de lipídios e proteínas (Murphy 2006). Por essa constituição pegajosa, os grãos de pólen são liberados em aglomerados que se prendem nas anteras e não são facilmente desprendidos, mesmo com alta velocidade do vento (Eisikowitch 1981). Entretanto, as abelhas quando visitam as flores da canola, manipulam esses agregados de pólen e promovem suas rupturas em partes menores e, conseqüentemente mais leves, facilitando a disseminação do pólen pelo vento (Pierre et al. 2010).

É comumente observado em angiospermas que a fertilidade feminina, indicada pela razão fruto por flor e/ou semente por óvulo, raramente atinge o seu valor máximo em plantas alógamas. Possivelmente, a razão para a baixa fertilidade feminina em

plantas com flores seja por fatores genéticos e ambientais. Por exemplo, em *Trillium grandiflorum* a produção de sementes foi menor em razão da limitação do pólen, possivelmente como resultado da pouca visitação dos polinizadores. Apesar disso, mesmo quando as flores de *T. grandiflorum* receberam pólen cruzado abundante, a razão semente por óvulo foi significativamente menor que um, implicando que outros fatores além de alguns ineficientes serviços de polinização também limitem a fertilidade feminina (Griffin e Barret 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar a biologia e morfologia floral da canola (*Brassica napus* L.), bem como verificar a fertilidade feminina dos híbridos de canola Hyola 61 e 433 em resposta a duas épocas de semeadura (25/05/2011 e 25/06/2011).

## **Material e Métodos**

### **Material Vegetal e Local do Estudo**

Os experimentos foram realizados com a cultura de *B. napus*, híbridos Hyola 61 e 433, em 2011, na Estação Experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, localizada no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil (24° 32' 09" S e 54° 01' 11" W; 392 m a.n.m.).

A área experimental possuía 90 m de comprimento, 21 m de largura e 1.512 m<sup>2</sup> de área efetiva semeada. Os híbridos de canola foram implantados em sistema de plantio direto e o milho cultivado na entressafra foi a cultura antecessora. Na adubação de base, foram utilizados 200 kg ha<sup>-1</sup> do formulado 12-15-15 (NPK). A semeadura dos híbridos foi realizada em 25/05/2011 e 25/06/2011, em 48 parcelas de 24 m<sup>2</sup> cada. A semeadura em cada parcela foi realizada em oito linhas espaçadas de 0,45 m, com o espaçamento entre plantas, na linha, de 0,05 m. A profundidade de semeadura foi de 0,01 m. Os demais tratos culturais seguiram as recomendações para a cultura da canola (Tomm et al. 2009).

A temperatura e a umidade relativa média do ar para o período de florescimento dos híbridos semeados em 25/05/2011 foram 18,6°C e 68% e as médias diárias mínimas e máximas registradas foram 13,4°C e 45% e 25°C e 86%, respectivamente. Na semeadura de 25/06/2011, a temperatura e a umidade relativa média do ar para o período de florescimento foram 21,1°C e 63% e as médias diárias mínimas e máximas registradas foram 14,7°C e 35% e 28°C e 85%, respectivamente. Os registros climáticos

coletados diariamente foram fornecidos pela Estação Meteorológica de Marechal Cândido Rondon.

### **O Estudo da Morfologia e Biologia Floral**

Os experimentos relacionados à morfologia e biologia floral foram realizados durante o período de florescimento dos híbridos semeados em 25/05/2011.

Intervalos de confiança da média populacional foram estimados, com índice de confiança de 95% de probabilidade, para determinar a faixa de valores que contém o valor real do parâmetro (média) para as características comprimento dos estames longos, curtos e do pistilo, visando à caracterização das flores em estádios de desenvolvimento da flor.

A morfologia floral foi analisada marcando-se 160 botões florais de cada híbrido de *B. napus*, em 20 plantas diferentes. Analisaram-se quatro flores a cada 3h, das 8h até às 17h. Os parâmetros mensurados foram: largura da pétala e comprimento da pétala, dos estames longos, estames curtos e do pistilo.

As áreas de concentração de emissão de odor foram detectadas utilizando-se solução aquosa de vermelho neutro (1: 10.000). O procedimento consistiu em mergulhar flores frescas de diferentes idades na solução de vermelho neutro durante 60 min. Posteriormente, as flores foram lavadas com água destilada, dissecadas sob microscópio estereoscópio e analisadas (Kearns e Inouye 1993).

A constância das abelhas africanizadas foi avaliada por meio da análise do pólen coletado nas corbículas. Neste ensaio, quatro abelhas com pólen nas corbículas foram coletadas diretamente das flores em quatro períodos diários (8; 11; 14 e 17h), com quatro repetições. A carga polínica de uma das corbículas foi preparada em lâmina histológica e corada com o reagente carmim acético 1%. Posteriormente, foram examinados 500 grãos de pólen, sob microscópio óptico, calculando o percentual de pólen de canola e a viabilidade do pólen.

O delineamento experimental empregado para a receptividade do estigma, viabilidade e germinabilidade do pólen *in vitro* foi em blocos casualizados completos, em esquema fatorial 2x4, com oito tratamentos, quatro repetições e cinco flores por unidade experimental, totalizando 160 flores analisadas. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de dois híbridos de canola (Hyola 61 e Hyola 433) e quatro estádios de desenvolvimento da flor (estádio 1: botão em pré-antese; estágio 2:

flores com idades entre 3 e 9h em relação ao estágio 1; estágio 3: flores com idades entre 24 e 33h em relação ao estágio inicial e estágio 4: flores com idades entre 48 e 51h em relação ao estágio inicial), definidas com base na idade das flores coletadas.

O modelo estatístico utilizado foi

$$Y_{ijk} = m + H_i + F_j + CF_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

$Y_{ij}$  = observação média de cada parcela na cultivar  $i$ , na idade da flor  $j$  e na repetição  $k$ ;

$m$  = efeito da média geral;

$H_i$  = efeito de híbrido, para  $i = (1 \text{ e } 2)$ ;

$F_j$  = efeito de idade da flor, para  $j = (1, 2, 3 \text{ e } 4)$ ;

$HF_{ij}$  = efeito de interação entre híbrido e idade da flor;

$\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório da parcela medido na cultivar  $i$ , na idade da flor  $j$  e na repetição  $k$ ;

Para o teste de receptividade estigmática, os estigmas de cada flor foram removidos com a utilização de uma pinça e, suas pontas imersas em uma gota de solução de peróxido de hidrogênio 20 volumes imediatamente após a sua separação da flor. A formação de bolhas, indicativo de estigmas receptivos, foi verificada sob microscópio estereoscópico (Dafni et al. 2005).

O teste de viabilidade polínica foi realizado nas mesmas flores utilizadas para a determinação da receptividade do estigma. Os grãos de pólen removidos de duas anteras de cada flor foram depositados em lâmina e corados com o corante carmim acético 1% e cobertas por lamínula para posterior observação em microscópio óptico. Para a determinação da porcentagem de pólen com e sem a presença de conteúdo citoplasmático, 500 grãos de pólen foram contados em cada lâmina (Dafni et al. 2005).

Os grãos de pólen foram removidos das anteras de cada flor e aspergidos em meio de germinação de pólen de 100  $\mu\text{L}$  (MGP: 0.01%  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0.07%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 3.0% PEG 4000 e 20% sacarose). Os grãos de pólen foram deixados para germinar por pelo menos 2h antes das amostras serem fixadas pela adição de formaldeído 0,87% ao meio de cultura (Bots e Mariani 2005).

Os efeitos de híbrido de canola, idade da flor e da interação entre híbrido e idade da flor sobre a receptividade do estigma, viabilidade do pólen e germinabilidade do tubo polínico foram verificados por meio de análise de variância. Os graus de liberdade e as somas de quadrados de idade da flor foram desdobrados em contrastes ortogonais específicos (Banzatto e Kronka 2006), para comparação das médias de idade da flor ou



das médias de grupos de idades florais por meio do teste F. Os contrastes de interesse foram:

$C_1 = m_{F1} + m_{F2} + m_{F3} - 3m_{F4}$  (média das observações de botão em pré-antese, flores com idade entre 3 e 9h, flores com idade entre 24 e 33h versus média das observações de flores com idade entre 48 e 5);

$C_2 = 2m_{F1} - m_{F2} - m_{F3}$  (média das observações de botão em pré-antese versus média das observações de flores com idade entre 3 e 9h e flores com idade entre 24 e 33h);

$C_3 = m_{F2} - m_{F3}$  (média das observações de flores com idade entre 3 e 9h versus média de observações de flores com idade entre 24 e 33h).

Equações de regressões foram estimadas para a receptividade do estigma e para o comprimento do pistilo, estames longos e curtos em função da idade (horas) da flor, utilizando-se do método dos mínimos quadrados. A seleção da equação que melhor se ajustou aos dados de receptividade do estigma foi realizada com base na significância dos parâmetros da regressão, pelo teste t parcial, incluso na análise de variância da regressão. A aderência dos modelos selecionados aos dados de receptividade foi avaliada pelo valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), calculado pela razão entre soma de quadrados (SQ) da regressão e SQ total (SQ da regressão + SQ independente da regressão).

### **Razão Semente por Óvulo**

A estimativa indireta da fertilidade feminina, ou seja, a porcentagem de óvulos que produziram sementes (razão semente por óvulo) foi calculada como a média do número de sementes por siliqua dividido pela média do número de óvulos por flor (Wiens 1984).

O delineamento experimental empregado foi o de blocos casualizados completos em esquema fatorial 3x2x2, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de três testes de polinização (área demarcada livre à visitação por insetos – controle; área coberta com gaiola de polinização com uma colônia de *A. mellifera* – área visitada apenas por abelhas africanizadas e; área coberta com gaiola de polinização sem abelhas – área de exclusão total de insetos), duas épocas de semeadura (25/05/2011 e 25/06/2011) e dois híbridos de canola (Hyola 61 e Hyola 433). As gaiolas

de polinização foram confeccionadas de acordo com o método descrito por Chiari et al. (2005).

As gaiolas foram montadas alguns dias antes da floração e desmontadas no término do período de florescimento, permitindo o pleno desenvolvimento vegetativo das plantas. No início do florescimento, as parcelas em gaiolas com abelhas receberam uma colônia de *A. mellifera* africanizada com cinco quadros, sendo três com cria e dois com alimento. Durante toda a floração, essas colônias receberam, individualmente, água potável e ½ L de xarope com uma concentração de açúcar em torno de 50% como complemento alimentar (Free 1993).

O número de grãos por siliqua foi obtido pela coleta ao acaso de 20 síliquas e a média do número de óvulos por ovário foi calculada por meio da contagem dos óvulos de dez flores de cinco plantas diferentes para cada tratamento, com quatro repetições, com auxílio de microscópio estereoscópico.

Os dados da variável resposta foram submetidos à análise de variância em esquema fatorial triplo. Para a comparação das médias entre as classes do fator teste de polinização sobre a variável resposta, utilizou-se o teste de Student-Newman-Keuls. O efeito de híbrido, época de semeadura, testes de polinização e interações sobre a razão semente por óvulo foi avaliado por meio do teste F. O nível de 5% de significância foi adotado em todas as análises estatísticas, que foram feitas utilizando-se o Statistical Analysis System (SAS 2012).

## **Resultados**

### **Morfologia e Biologia Floral**

O período de florescimento dos híbridos iniciou-se em 24/07/2011 e 31/07/2011 e estendeu-se até 25/08/2011 e 01/09/2011, respectivamente, para os genótipos de canola Hyola 61 e 433.

As flores de canola (*B. napus* L.) estão dispostas em inflorescências racemosas terminais, são actinomorfas, monóclinas e heteroclamídeas. O cálice é dialissépalo, constituído por quatro sépalas e a corola, apresenta quatro pétalas unguiculadas de coloração amarela. O androceu é tetradinâmico, constituído por quatro estames maiores e dois menores, de igual tamanho. As anteras apresentam deiscência longitudinal.

O gineceu é gamocarpelar, sendo o ovário súpero, com placentação parietal. A produção média de óvulos por flor foi de  $24,72 \pm 2,8$  óvulos. As pétalas mediram  $14,75 \pm 0,96$  mm de comprimento e  $7,81 \pm 0,77$  mm de diâmetro. As flores de canola, quando tratadas com solução de vermelho neutro, apresentaram áreas de concentração de emissão de odor, osmóforos, por toda a corola e anteras. Os nectários estão situados no centro da flor, sendo dois nectários entre o ovário e os dois estames curtos e dois entre os estames maiores e as pétalas.

A duração das flores de canola foi de 48h. Após a antese, ocorreu a queda dos elementos florais, exceto o ovário. De acordo com as condições apresentadas durante o desenvolvimento dos estames e pistilo, as flores de canola foram caracterizadas em quatro estádios florais, independentemente do híbrido avaliado (Tabela 1).

No estágio inicial, de pré-antese, os botões florais apresentaram-se fechados e entumecidos, os estames longos localizados acima do pistilo, as anteras em início de deiscência e, por conseguinte, grãos de pólen já são observados sobre os estigmas das flores. Nas flores com idades entre 3 e 9h em relação ao estágio de botão em pré-antese, a corola encontrou-se parcialmente aberta, os estames longos ainda posicionados acima do pistilo e a disponibilidade do pólen foi alta. No terceiro estágio floral, a corola encontrou-se totalmente aberta e o pistilo acima dos estames longos, limitando o processo de autopolinização espontânea na flor.

No segundo e terceiro estágio floral, as flores são mais atrativas aos polinizadores porque estão mais vigorosas e a disponibilidade do pólen é maior. No quarto estágio floral inicia-se o desprendimento dos estames e pétalas e a disponibilidade do pólen é baixa. Nesse estágio floral, a velocidade do vento pode acelerar a queda dos elementos florais, diminuindo ainda mais a atratividade das flores aos insetos polinizadores (Tabela 1 e Fig. 1).

As análises microscópicas dos grãos de pólen retirados das corbículas de abelhas operárias, visitando flores de canola, revelaram que essa representou a única fonte de recurso polínico para *A. mellifera* africanizada, com 100% de grãos de pólen em todas as amostras analisadas. A viabilidade média do pólen presente nas corbículas das abelhas africanizadas foi de 97%.

A equação de regressão estimada para a receptividade do estigma em função da idade (horas) da flor evidenciou aumento do percentual de estigmas receptivos a partir do início da abertura da flor, que ocorreu por volta de 3h em relação ao estágio de botão em pré-antese, com pico máximo de receptividade após 23h desse estágio floral. Ainda,

as flores de canola apresentaram certa receptividade do estigma até 48h em relação ao estágio inicial, momento este em que foi observado o início do processo de senescência e início de formação das siliquas (Fig. 2).

Houve efeito significativo ( $P \leq 0,05$ ) de estágio de desenvolvimento da flor sobre a viabilidade do pólen (Fig. 3a), germinabilidade do pólen *in vitro* (Fig. 3b) e receptividade do estigma (Fig. 3c).

As análises indicaram que as flores de canola com idade entre 48 e 51h em relação ao estágio inicial apresentaram germinabilidade *in vitro* e viabilidade do pólen menor e receptividade do estigma maior do que o conjunto de flores de todos os outros estádios florais (Tabela 2).

O estágio de botão em pré-antese apresentou germinabilidade do pólen *in vitro* e receptividade do estigma menor e viabilidade do pólen maior do que a média das observações das flores com idade entre 3 e 9h e 24 e 33h em relação ao estágio inicial. As flores com idade entre 3 e 9h e 24 e 33h em relação ao estágio inicial não diferiram entre si para a viabilidade e germinabilidade do pólen *in vitro*, porém, as flores de idade entre 24 e 33h tiveram maior receptividade do estigma comparadas às flores de idade entre 3 e 9h em relação ao estágio inicial (Tabela 2).

Houve interação ( $F = 6,76$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,0035$ ) entre época de semeadura e teste de polinização para a razão semente por óvulo. A razão semente por óvulo não diferiu entre as áreas livre e coberta por gaiolas com abelhas e foi maior do que na área coberta por gaiolas sem insetos, em resposta à semeadura realizada em 25/05/2011. A razão semente por óvulo foi maior na área coberta por gaiolas com abelhas em comparação às áreas livre e coberta por gaiolas sem insetos, que também diferiram entre si, sendo menor na área coberta por gaiolas sem insetos, quando os genótipos foram semeados em 25/06/2011 (Polinização/época-1:  $F = 28,11$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ; Polinização/época-2:  $F = 59,80$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 3).

Não houve diferença na razão semente por óvulos entre as épocas de semeadura, tanto na área livre quanto na coberta por gaiolas sem insetos, porém, houve diferença entre as épocas de semeadura para essa variável na área coberta por gaiolas com abelhas, ocorrendo maior razão semente por óvulos em 25/06/2011, independentemente do híbrido avaliado (Época/ livre:  $F = 2,86$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,1003$ ; Época/ área coberta sem insetos:  $F = 3,59$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0671$ ; Época/ área coberta com abelhas:  $F = 7,33$ ;  $gl = 1$ ,  $P = 0,0107$ ) (Tabela 3).

Houve efeito de interação ( $F = 23,21$ ;  $P < 0,0001$ ) entre genótipo de canola e época de semeadura. O híbrido Hyola 433 teve maior razão semente por óvulo em relação ao genótipo Hyola 61 quando semeados em 25/05/2011. Não houve efeito na razão semente por óvulo entre os híbridos em resposta à semeadura realizada em 25/06/2011 (Híbrido/época-1:  $F = 41,80$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ; Híbrido/época-2:  $F = 0,13$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,7187$ ) (Tabela 4).

### Discussão

Os resultados obtidos permitiram inferir que a canola possui flores hermafroditas com separação temporal incompleta entre as funções masculinas e femininas. Isso ocorre, pois no estágio de botão em pré-antese, embora haja pólen disponível em decorrência do início do processo de deiscência das anteras, a autopolinização é limitada pela menor receptividade dos estigmas, bem como em razão dos grãos de pólen apresentarem pouca capacidade de emissão de tubo polínico (ver Tabela 2).

A dicogamia ocorre em virtude da ocorrência de alguma sobreposição entre a oferta de pólen e o período em que o estigma encontra-se receptivo (Gama et al. 2011). Portanto, os dados obtidos constituem evidência de ocorrência de protandria, um tipo de dicogamia em flores dos híbridos Hyola 61 e 433 de canola. A protandria também foi verificada em flores do híbrido Hyola 432 de canola (Rosa et al. 2010).

Por outro lado, grãos de pólen retirados das anteras e depositados sobre o estigma em um mesmo botão em estágio de pré-antese formaram frutos na cultivar CTC-4 de canola (Mussury e Fernandez 2000). Por conseguinte, outros estudos se fazem necessários para determinar a ocorrência ou não de algum tipo de dicogamia em flores de outros híbridos de canola. Os resultados aqui obtidos limitam-se apenas a ocorrência de protandria nos híbridos de canola avaliados

As flores com idade entre 3 e 9h e 24 e 33h apresentaram receptividade do estigma e germinabilidade do pólen *in vitro* maior ( $P < 0,05$ ) em relação ao estágio de botão em pré-antese. Nessas flores há possibilidade de ocorrência de autopolinização.

Porém, caso o clima seja favorável, por exemplo, quente e seco, quase todo o pólen das anteras são desprendidos no início da antese da flor (Thomas 2003), o que limita o processo de autopolinização espontânea conforme a idade da flor avança. Nas flores de idade entre 24 e 33h em relação ao estágio de botão em pré-antese, a

autopolinização espontânea é limitada em decorrência dos estames longos estarem abaixo do pistilo (Tabela 1).

A protandria ocorre frequentemente em plantas com flores hermafroditas autocompatíveis e autoincompatíveis (Lloyd e Yates 1982) e permite que a maioria do pólen seja disperso antes das papilas estigmáticas tornarem-se receptivas (Tangmitcharoen e Owens 1997). Entretanto, a protandria por si só não pode evitar a autopolinização pelo processo de geitonogamia (transferência de pólen entre as flores de um mesmo indivíduo) (McDade 1986), que por sua vez, não oferece nenhuma garantia reprodutiva e pode causar graves consequências genéticas por causa da depressão endogâmica (Cresswell 1999, Eckert 2000, Williams 2007). Embora a autopolinização espontânea também possa causar prejuízos genéticos na ausência de insetos polinizadores, esse mecanismo de polinização pode oferecer alguma garantia reprodutiva quando há ausência de polinizadores (Morgan e Wilson 2005).

Mesmo não ocorrendo o processo de geitonogamia no estágio de botão em pré-antese porque a corola está fechada, nas flores de idade entre 3 e 9h e 24 e 33h em relação ao estágio de botão em pré-antese, a geitonogamia e a autopolinização espontânea podem ocorrer. Contudo, o desenvolvimento dicogâmico das flores individuais pode combinar características da estrutura da inflorescência, fenologia do florescimento e comportamento polinizador para reduzir a probabilidade deste processo de polinização (McDade 1986).

As flores de canola estão dispostas em inflorescências racemosas, com o florescimento iniciando no botão mais baixo no racemo principal e continuando ascendente nos dias seguintes (Wang et al. 2010). Nas espécies com inflorescências racemosas foi demonstrado que as abelhas forrageiam da base da inflorescência em direção ao ápice, portanto, elas depositam o pólen de plantas anteriormente visitadas sobre o estigma das flores localizadas mais abaixo no racemo (flores mais velhas) antes de se moverem para as flores mais jovens produtoras de pólen. Por conseguinte, as abelhas que deixam essas inflorescências vão carregar o pólen dessa planta para flores pistiladas na próxima inflorescência visitada, limitando o processo de geitonogamia (Best e Bierzychudek 1982, McDade 1986).

Nas flores com idade entre 48 e 51h, a disponibilidade do pólen é muito baixa e as estruturas florais estão se desprendendo, ocasionando menor atratividade das flores dos híbridos aos insetos polinizadores. A menor atratividade limita a ocorrência de polinização cruzada realizada pelos insetos.

Ainda, nas flores com idade entre 48 e 51h, a autopolinização espontânea também é restringida em decorrência do estigma estar localizado acima dos estames longos. Os dados obtidos indicam que no final da duração da flor ambos os processos de polinização são limitados. Assim, é possível que o maior percentual de fertilização dos óvulos deva ocorrer em flores mais jovens, em especial naquelas com idades de 24 a 33h em relação ao estágio de botão em pré-antese.

Nas flores de canola também foram verificados mecanismos para ocorrência de alogamia, como grande disponibilidade de pólen e presença de osmóforos, sugerindo atratividade das suas flores aos insetos polinizadores. Além disso, observou-se que *B. napus* pode ser considerada uma planta cujas flores apresentam síndrome de melitofilia de acordo com a classificação de Faegri e Van der Pijl (1979).

Nas áreas livre e coberta com abelhas, a razão semente por óvulo foi 22,03% e 20,18% maior ( $P < 0,05$ ), respectivamente, do que na área coberta sem insetos, em 25/05/2011, independentemente do híbrido avaliado. A razão semente por óvulo na área coberta com abelhas foi 10,71% e 37,44% maior ( $P < 0,05$ ) do que nas áreas livre e coberta sem insetos, respectivamente, em 25/06/2011. Ainda, a razão semente por óvulo na área livre foi 24,14% maior ( $P < 0,05$ ) em relação à área coberta sem insetos, em 25/06/2011. Na área coberta com abelhas, a razão semente por óvulo foi 7,31% maior ( $P < 0,05$ ) em 25/06/2011 em comparação a 25/05/2011.

No híbrido de canola Hyola 432, o percentual estimado do número de sementes por planta pelo número de óvulos por flor foi 77,89% maior quando as flores foram polinizadas naturalmente em relação às flores submetidas ao processo de autogamia (Rosa et al. 2011).

Assim, fica evidente que o processo de autopolinização em canola não é adequado ou eficiente comparado ao processo de polinização cruzada realizada pelas abelhas africanizadas para a fertilização dos óvulos e, conseqüentemente, para a produção de sementes. A redução do número de óvulos que se desenvolvem em sementes é geralmente atribuída a fatores ecológicos, tais como os fatores ambientais estressantes, falta ou inadequada polinização, controle materno (Wiens 1984) e dispersão funcional (Casper e Wiens 1981).

Quando as condições climáticas foram mais satisfatórias para o cultivo da canola, ou seja, em resposta à semeadura de 25/05/2011 (Chambó 2013, dados não publicados), o híbrido Hyola 433 teve 16,18% maior razão semente por óvulo comparado ao híbrido Hyola 61, indicando que tendo disponibilidade de recursos e ambiente favorável, o

genótipo Hyola 433 apresenta maior potencial para a fertilização dos óvulos do que o híbrido Hyola 61.

A disponibilidade de recursos e do ambiente presumivelmente determinam o potencial de crescimento de genótipos específicos, bem como o número de flores produzidas por planta. Conseqüentemente, o número total de sementes produzidas não é apenas susceptível de variar enormemente em locais diferentes, como também em relação às estações do ano (Wiens 1984).

Além disso, independentemente dos fatores estudados, a canola teve uma razão semente por óvulo baixa (média geral 74%). A porcentagem de sementes desenvolvidas de óvulos (razão semente por óvulo) é aproximadamente 90% em plantas anuais, mas apenas cerca de 50% em plantas perenes. Nas plantas anuais e perenes, a razão semente por óvulo ocorre independente dos seus sistemas reprodutivos, embora muitas plantas anuais sejam normalmente autopolinizáveis, enquanto as perenes são praticamente todas de polinização cruzada (Wiens 1984).

As espécies anuais da família Capparaceae, conhecidas por possuir uma relação de parentesco com a família Brassicaceae (Hall et al. 2002) apresentaram razão semente por óvulo baixa (cerca de 30-70%), característico de plantas perenes (Wiens 1984).

Assim, há evidência de que os híbridos Hyola 61 e 433 apresentam protandria e mecanismos para ocorrência de alogamia, com síndrome de melitofilia. Os dados permitiram inferir que há um mecanismo reprodutivo misto em *B. napus*, haja vista a ampla flexibilidade reprodutiva da espécie, com uma taxa de desenvolvimento de óvulos em sementes maior na presença de insetos polinizadores em comparação à situação de ausência.

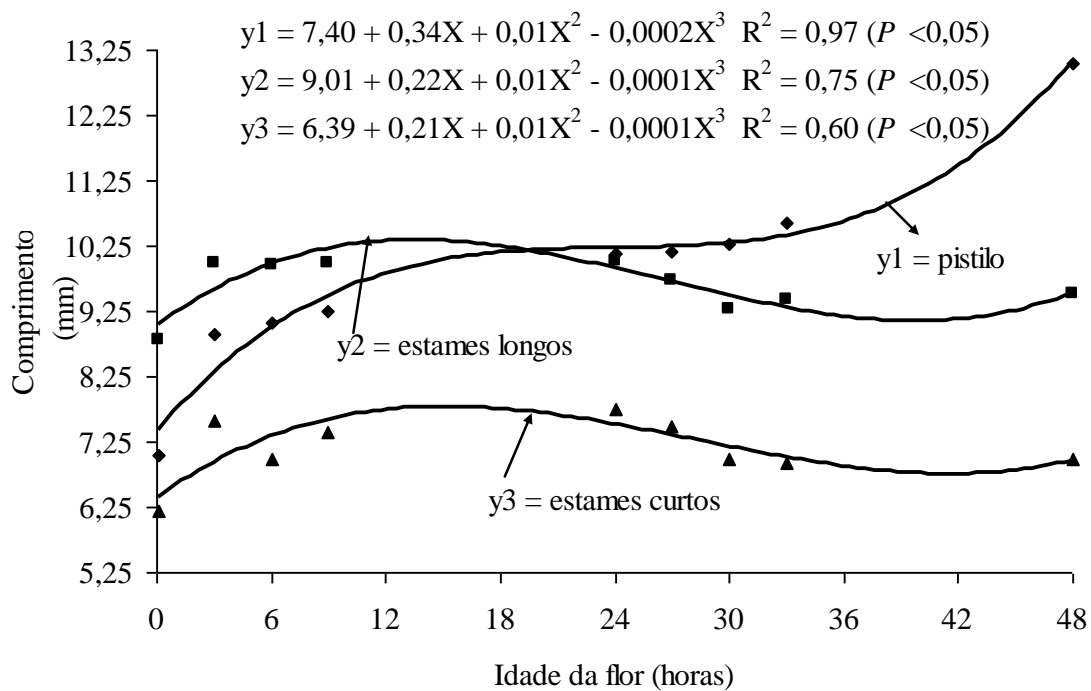
### Referências Citadas

- Banzatto, D. A., and S. N. Kronka. 2006.** Experimentação agrícola, 4ª ed. Funep, Jaboticabal, SP.
- Best, L. S., and P. Bierzychudek. 1982.** Pollinator foraging on fox-glove (*Digitalis purpurea*): a test of a new model. *Evolution* 36: 70-79.
- Bots, M., and C. Mariani. 2005.** Pollen viability in the field. Radboud Universiteit, Nijmegen, Netherlands.
- Casper, B. B., and D. Wiens. 1981.** Fixed rates of random ovule abortion in *Cryptantha flava* (Boraginaceae) and its possible relation to seed dispersal. *Ecology* 62: 866-869.

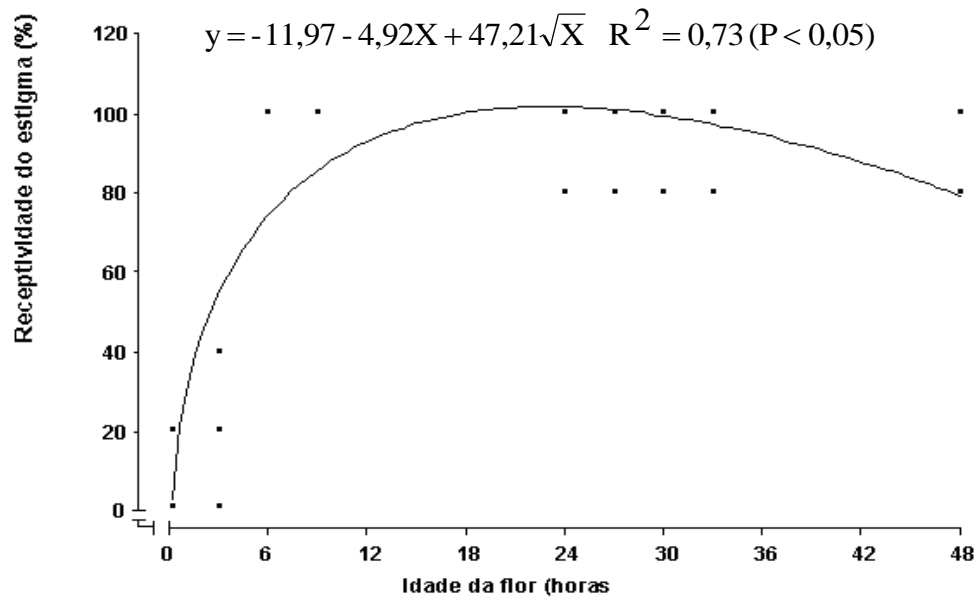


- Chiari W. C., V. A. A. T. Toledo, M. C. C. Ruvulo-Takasusuki, A. J. B. Oliveira, E. S. Sakaguti, V. M. Attencia, F. C. Costa, and M. H. Mitsui. 2005.** Pollination of soybean (*Glycine max* L. Merrill) by honeybees (*Apis mellifera* L.). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48: 31-36.
- (CONAB) Companhia Nacional de Abastecimento. 2011.** Canola. Conab, Brasília, DF. (<http://conab.gov.br>).
- Cresswell, J. E. 1999.** The influence of nectar and pollen availability on pollen transfer by individual flowers of oil-seed rape (*Brassica napus*) when pollinated by bumblebees (*Bombus lapidarius*). *J. Ecol.* 87: 670-677.
- Dafni, A., P. G. Kevan, and B. C. Husband. 2005.** Practical pollination biology. Enviroquest, Ontario, Canadá.
- Dalmago, G. A., G. R. Cunha, G. O. Tomm, L. F. Pires, A. Santi, A. Pasinato, G. Fanton, I. Luersen, F. L. D. Müller, and A. L. Müller. 2008.** Zoneamento agroclimático para o cultivo de canola no Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Agrometeorol.* 16: 295-305.
- Eckert, C. G. 2000.** Contributions of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass-flowering, clonal plant. *Ecology* 81: 532-542.
- Eisikowitch, D. 1981.** Some aspects of pollination of oil-seed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agric. Sci.* 96: 321-326.
- Faegri, K., and L. van der Pijl. 1979.** The principles of pollination ecology, 3<sup>rd</sup> ed. Pergamon Press, London, UK.
- Free, J. B. 1993.** Insect pollination of crops, 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, London, UK.
- Gama, L. U., A. A. A. Barbosa, and P. E. A. M. Oliveira. 2011.** Sistema sexual e biologia floral de *Pouteria ramiflora* e *P. torta* (Sapotaceae). *Rev. Bras. Bot.* 34: 375-387.
- Griffin, S., and S. C. H. Barrett. 2002.** Factors affecting low seed: ovule ratios in a spring woodland herb, *Trillium grandiflorum* (Melanthiaceae). *Int. J. Plant Sci.* 163: 581-590.
- Hal, J. C., K. J. Sytsma, and H. H. Iltis. 2002.** Phylogeny of Capparaceae and Brassicaceae based on chloroplast sequence data. *Am. J. Bot.* 89: 1826-1842.
- Hoyle, M., K. Hayter, and J. E. Cresswell. 2007.** Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecol. Appl.* 17: 2123-2135.
- Kearns, C. A., and D. W. Inouye. 1993.** Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Niwot, Colorado.
- Lloyd, D. G., and C. J. Yates. 1982.** Intrasexual selection and segregation of pollen and stigmas in hermaphrodite plants, exemplified in *Wahlenbergia albomarginata* (Campanulaceae). *Evolution* 36: 909-913.
- McDade K. A. 1986.** Protandry, synchronized flowering and sequential phenotypic unisexuality in neotropical *Pentagonia macrophylla* (Rubiaceae). *Oecologia* 68: 218-223.
- Morgan, M. T., and W. G. Wilson. 2005.** Self-fertilization and the escape from pollen limitation in variable pollination environments. *Evolution* 59: 1143-1148.
- Murphy, D. J. 2006.** The extracellular pollen coat in members of the Brassicaceae: composition, biosynthesis, and functions in pollination. *Protoplasma* 228: 31-39.
- Mussury, R. M., and W. D. Fernandes. 2000.** Studies of the floral biology and reproductive system of *Brassica napus* L. (Cruciferae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 43(1): 0-0.
- (OGTR) Office of the Gene Technology Regulator. 2011.** Biology of *Brassica napus* L. (Canola). OGTR, Australian.

- Pierre, J., B. Vaissière, P. Vallée, and M. Renard. 2010.** Efficiency of airborne pollen released by honeybee foraging on pollination in oilseed rape: a wind insect-assisted pollination. *Apidologie* 41: 109-115.
- Rosa, A. S., B. Blochtein, N. R. Ferreira, and S. Witter. 2010.** *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as a potential *Brassica napus* pollinator (cv. Hyola 432) (Brassicaceae), in Southern Brazil. *Braz. J. Biol.* 70: 1075-1081.
- Rosa, A. D. S., B. Blochtein, and D. K. Lima. 2011.** Honey bee contribution to canola pollination in Southern Brazil. *Sci. Agric.* 68: 255-259.
- SAS Institute. 2012.** SAS/STAT user's guide, version 9.3. SAS Institute, Cary, NC.
- Tangmitcharoen, S., and J. N. Owens. 1997.** Floral biology, pollination, pistil receptivity, and pollen tube growth of teak (*Tectona grandis* L.f.). *Ann. Bot.* 79: 227-241.
- Thomas, P. 2003.** Canola growers manual. Canola Council of Canada, Winnipeg, Canadá.
- Tomm, G. O., S. Wiethölter, A. A. Dalmago, and H. P. Santos. 2009.** Tecnologia para produção de canola no Rio Grande do Sul. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.
- Vieira, R. E., C. S. Kotaka, M. H. Mitsui, A. P. Taniguchi, V. A. A. Toledo, M. C. C. Ruvollo-Takasusuki, Y. Terada, S. H. Sofia, and F. M. Costa. 2002.** Biologia floral e polinização por abelhas em siratro (*Macroptilium atropurpureum* Urb.). *Acta Sci.* 24: 857-861.
- Wang, X., A. Mathieu, P. H. Cournède, J. M. Allirand, A. Jullien, P. Reffye, and B. G. Zhang. 2009.** Stochastic models in floral biology and its application to the study of oilseed rape (*Brassica napus* L.) fertility, pp. 175-182. *In* B. Li, Y. Guo, and M. Jaeger (eds.), Proceedings, Symposium: the Third International Symposium on Plant Growth Modeling, Simulation, Visualization and Applications (PMA 09), 9-13 November 2009, Beijing, China.
- Wiens, D. 1984.** Ovule survivorship, brood size, life history, breeding systems, and reproductive success in plants. *Oecologia* 64: 47-53.
- Williams, I. H., A. P. Martin, and R. P. White. 1987.** The effect of insect pollination on plant development and seed production in winter oil-seed rape (*Brassica napus* L.). *J. Agric. Sci.* 109:135-139.
- Williams, C. F. 2007.** Effects of floral display size and biparental inbreeding on outcrossing rates in *Delphinium barbeyi* (Ranunculaceae). *Am. J. Bot.* 94: 1696-1705.



**Fig. 1.** Comprimentos das estruturas masculinas e femininas de flores de canola em função da idade da flor em horas.



**Fig. 2.** Receptividade do estigma em função da idade (horas) da flor de canola.



**Fig. 3.** Grãos de pólen de *B. napus* e reação do peróxido de hidrogênio com os estigmas. (a) Grão de pólen em contraste com o corante carmim acético, (b) Grão de pólen no meio de cultura (seta indica o tubo polínico germinado) e (c) Estigmas receptivos (a seta no estigma indica o desprendimento de bolhas, que é indicativo de sua receptividade).

**Tabela 1.** Estádios florais e intervalos de confiança da média populacional das estruturas reprodutivas em *B. napus*, Marechal Candido Rondon, Paraná, Brasil

Estádio	Idade da flor (horas)	Corola	Pólen disponível	IC ( $\mu$ ) 95%*		
				Estames curtos (mm)	Estames longos (mm)	Pistilo (mm)
Botão em pré-antese	0-3	Fechada	Alto	6,14-7,10	8,74-9,75	7,14-8,50
2	3-9	Parcialmente Aberta	Alto	7,10-7,80	9,75-10,43	8,50-9,21
3	24-33	Aberta	Alto	7,20-7,67	9,51-10,08	9,75-10,60
4	48-51	Início da queda	Baixo	6,65-7,26	9,19-9,85	12,75-13,41
CV (%)				6,08	4,90	4,80

\* Intervalos de confiança da média populacional ( $\mu$ ) obtidos a partir de 72 observações.

**Tabela 2.** Valores médios da germinabilidade do pólen *in vitro*, viabilidade do pólen e receptividade do estigma em *Brassica napus* por grupo experimental, e probabilidade de significância dos contrastes

Tratamento <sup>(1)</sup>	Variável		
	Germinabilidade do pólen <i>in vitro</i>	Viabilidade do pólen	Receptividade do estigma
mF <sub>4</sub>	16,7*	97,0*	85,0*
(mF <sub>1</sub> + mF <sub>2</sub> + mF <sub>3</sub> )/3	32,0	98,4	58,9
mF <sub>1</sub>	27,0*	99,0*	5,0*
(mF <sub>2</sub> + mF <sub>3</sub> )/2	34,5	98,1	85,8
mF <sub>2</sub>	35,0 <sup>ns</sup>	98,0 <sup>ns</sup>	76,6*
mF <sub>3</sub>	34,0	98,1	95,0
CV (%)	11,04	0,78	12,95
Contraste	Probabilidade <sup>(1)</sup>		
mF <sub>4</sub> - (mF <sub>1</sub> + mF <sub>2</sub> + mF <sub>3</sub> )/3	<0,0001	0,0002	<0,0001
mF <sub>1</sub> - (mF <sub>2</sub> + mF <sub>3</sub> )/2	<0,0001	0,0097	<0,0001
mF <sub>2</sub> - mF <sub>3</sub>	0,5274	0,7457	0,0003

<sup>(1)</sup> mF<sub>1</sub>- média do estágio 1 (botão em pré-antese); mF<sub>2</sub>- média do estágio 2 (flores com idade entre 3 e 9h em relação ao estágio 1); mF<sub>3</sub>- média do estágio 3 (flores com idade entre 24 e 33h em relação ao estágio 1) e; mF<sub>4</sub>- média do estágio 4 (flores com idade entre 48 e 51h em relação ao estágio 1). \*Contraste significativo pelo teste F ( $\alpha = 0,05$ ).

**Tabela 3.** Médias e seus respectivos desvios-padrão da razão sementes por óvulos por combinação entre testes de polinização e épocas de semeadura em *Brassica napus*, no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil

Testes de Polinização	Época de semeadura	
	25/05/2011	25/06/2011
Livre	79,20 ± 7,91 aA	75,63 ± 7,03 bA
Área coberta sem insetos	64,91 ± 8,17 bA	60,91 ± 5,30 cA
Área coberta com uma colônia de <i>A. mellifera</i>	77,98 ± 7,22 aB	83,69 ± 4,93 aA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre os testes de polinização em cada época de semeadura, pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre as épocas de semeadura em cada teste de polinização, pelo teste F, a 5% de significância. <sup>1</sup>Médias obtidas a partir de oito observações.



**Tabela 4.** Médias e seus respectivos desvios-padrão da razão sementes por óvulos por combinação entre híbridos de canola e épocas de semeadura em *Brassica napus*, no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil

Híbrido	Época de semeadura	
	25/05/2011	25/06/2011
Hyola 61	68 ± 8,46 b	74 ± 10,70 <sup>ns</sup>
Hyola 433	79 ± 8,21 a	73 ± 16,42

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre os híbridos em cada época de semeadura, pelo teste F; <sup>ns</sup> não significativo. <sup>1</sup>Médias obtidas a partir de 12 observações.

## V – Padrão Comportamental de Insetos em *Brassica napus* L. em Resposta aos Fatores Climáticos

**RESUMO** Objetivou-se verificar a diversidade de insetos e seu comportamento de forrageamento em relação a variáveis meteorológicas específicas na cultura de *Brassica napus*. A frequência dos insetos visitantes foi realizada nos 10 primeiros minutos de cada hora, das 8h às 17h, permanecendo um minuto na frente de cada planta marcada. Em cada sessão de análise foi anotado o número de visitas de cada visitante floral e os recursos coletados por *A. mellifera* africanizada, bem como o número de flores visitadas por essas abelhas em um minuto, número de flores visitadas por *A. mellifera* em uma única planta em um minuto e o tempo de visita de *A. mellifera* na flor. As abelhas africanizadas foram os visitantes florais mais abundantes (89%) dentre todos os insetos, sendo as abelhas com comportamento único para coleta de néctar mais frequentes (90%) na cultura. As abelhas africanizadas visitaram  $12,9 \pm 1,40$  flores em um minuto e  $2,96 \pm 1,09$  flores em uma única planta em um minuto. O tempo de permanência dessas abelhas nas flores de canola foi de  $4,2 \pm 1,6$  segundos. O número de visitantes florais acompanhou a variação dos fatores abióticos ao longo do dia, principalmente, a temperatura, umidade relativa, velocidade do vento e radiação solar. As abelhas africanizadas foram mais ativas em horas diferentes dos outros visitantes florais e forragearam mais intensamente no híbrido Hyola 433 em relação ao Hyola 61, o qual foi mais atrativo aos demais insetos.

**PALAVRAS-CHAVE** *Apis mellifera*, canola, modelos lineares generalizados, visitantes florais

**ABSTRACT** The objective was to verify the spectrum of pollinating insects and the foraging behavior in relation to meteorological variables in the culture of *Brassica napus*. The frequency of visitor insects observed in the first 10 minutes of each hour, from 8:00 to 17:00h, showed that each insect remained a minute in front of the marked plant. In each analysis session were recorded: the number of visitations to the rapeseed flowers by each pollinator; the resources collected by the Africanized honeybees; the number of flowers visited by the *Apis mellifera* in one minute; the number of flowers visited by *A. mellifera* on one plant in one minute; and finally, the amount of time that the *A. mellifera* spent visiting the flower. The Africanized honeybees were the most

abundant pollinating insects (89%) among all flower visitors, and the nectar collectors were the most frequent (90%) in the culture. The Africanized honeybees visited  $12.9 \pm 1.40$  flowers in one minute and  $2.96 \pm 1.09$  flowers on only one plant in one minute. The time the honeybees spent on the rapeseed flowers was  $4.2 \pm 1.6$  seconds. The abundance of floral visitors followed the variation of abiotic factors throughout the day, especially the temperature, relative humidity, wind speed, and solar radiation. The Africanized bees were more active than the other pollinators at different times of the day and they also foraged more intensely on the Hyola 433 hybrid than on the Hyola 61 hybrid; the latter was more attractive to the other floral visitors.

**KEY WORDS:** *Apis mellifera*, rapeseed, generalized linear models, floral visitors

## Introdução

Na região Sul do Brasil, a canola (*B. napus* L.) constitui-se como uma das melhores alternativas para diversificação de cultivos de inverno e geração de renda (Tomm 2008). Os principais produtores mundiais na safra 2011/2012 foram a União Europeia, Canadá, China e Índia. A produção mundial do grão de canola na safra 2011/12 foi projetada em 60,93 milhões de toneladas, em 33,76 milhões de hectares de área plantada (USDA 2012). No Brasil, a produção de grãos de canola na safra de 2011/2012 foi de 52 mil toneladas, em 42.400 hectares de área semeada. A maioria das lavouras brasileiras ocorre no Rio Grande do Sul e no Paraná. Os produtores brasileiros estão aprimorando o conhecimento técnico sobre o cultivo e a colheita, melhorando os resultados finais da safra (CONAB 2013).

A canola é uma cultura parcialmente autopolinizável, com cerca de  $\frac{1}{3}$  de polinização cruzada (Becker et al. 1992). O transporte de pólen por insetos, vento ou gravidade é necessário (Free 1993, Westcott e Nelson 2001). A polinização por insetos em canola pode levar à maior produção de sementes, melhorando o rendimento e contribuindo para a uniformidade e estabelecimento inicial das síliquas (Sabbahi et al. 2005, Araneda-Durán et al. 2010, Rosa et al. 2011). No entanto, a eficiência ou não do processo de polinização entomófila depende, principalmente, das condições climáticas, pois afeta igualmente a cultura e os polinizadores (Abrol 2007). Além disso, o efeito da polinização entomófila sobre a produtividade em canola é dependente da cultivar, bem como da capacidade de compensação da cultura (Mesquida et al. 1988, Free 1993).

A distribuição espacial de insetos polinizadores em plantios agrícolas pode prover informações importantes sobre os mecanismos de dispersão das espécies e sua interação com fatores ambientais, sendo útil ainda nos estudos ambientais e de comportamento das espécies. Porém, o padrão espacial de populações de insetos tem sido pouco pesquisado, em parte pelo esforço intensivo da amostragem que é requerida para obter tal informação, mas também pelas limitações prévias em metodologias estatísticas (Ruiz et al. 2003).

Em geral, variáveis respostas que apresentem distribuições discretas e tipicamente distribuídas em aglomerados e com excesso de valores iguais a 0, como contagem de insetos, devem ser os dados modelados, dentro da metodologia estatística, usando-se a distribuição de Poisson (Nagae et al. 2008).

O presente estudo foi realizado para avaliar quais são os insetos polinizadores e seu comportamento de forrageamento em relação a algumas variáveis meteorológicas, como temperatura do ar, umidade relativa, velocidade do vento e radiação solar.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido com a cultura da canola (*Brassica napus* L. var. oleífera) híbridos Hyola 61 e Hyola 433, durante a safra 2011, na Estação Experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, localizada no município de Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil (24°32'09"S e 54°01'11"W; 392 m a.n.m.). Próxima à área experimental culturas de crambe (*Crambe abyssica*), quinoa (*Chenopodium quinoa*) e milho (*Zea mays*) estavam implantadas. Também estava presente, a 1 km de distância do experimento um apiário com seis colônias de abelhas africanizadas.

Os dados meteorológicos locais durante a condução do experimento foram coletados e registrados a cada 10 min, com o auxílio da Estação Meteorológica Experimental da Unioeste.

#### **Frequência dos Visitantes Florais**

A atividade de forrageamento dos visitantes florais foi monitorada pelo método de plantas focais (Potts et al. 2001). A eficiência deste método baseia-se na possibilidade das mesmas plantas serem experimentadas durante um dia ou temporada, bem como por ser adequado para o estudo de uma única espécie em floração (Dafni et al. 2005).

Antes do período de florescimento, dez plantas de cada híbrido foram escolhidas ao acaso e marcadas em cada unidade experimental, com quatro e seis repetições, respectivamente, para o híbrido Hyola 61 e 433, totalizando 100 plantas. Na escolha das plantas, tomou-se o cuidado de escolher aquelas com o mesmo tamanho e que se encontravam na área útil da unidade experimental.

A frequência dos visitantes florais foi realizada por dois observadores, cada um analisando um genótipo, em 08/08, 09/08, 10/08, 11/08, 12/08 e 15/08/2011 para o híbrido Hyola 433 e, em 10/08, 11/08, 12/08 e 15/08/2011 para o híbrido Hyola 61, nos 10 min primeiros de cada horário, das 8h às 17h, permanecendo 1 min, na frente de cada planta marcada.

Em cada sessão de análise, foi anotado o número de visitas de cada visitante às flores de canola e os recursos coletados pelas abelhas africanizadas, bem como o número de flores visitadas por essas abelhas em 1 min, número de flores visitadas por *A. mellifera* em uma única planta em 1 min, e o tempo de visita de *A. mellifera* na flor.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, em que o fator híbrido de canola foi alocado nas parcelas e o tempo (hora do dia) nas subparcelas. Os 16 tratamentos foram constituídos pela combinação de dois híbridos (Hyola 61 e 433) e oito tempos em horas (8h25, 9h25, 10h25, 11h25, 14h25, 15h25, 16h25 e 17h25), que representaram os horários pré-determinados de visitação dos insetos. As subparcelas foram constituídas por 80 unidades experimentais, sendo cada uma representada pelo conjunto de dez plantas. Na unidade experimental considerou-se um tempo de observação de 1 min, por planta, totalizando cerca de 10 min.

### Procedimentos Estatísticos

A verificação da normalidade dos resíduos padronizados de cada variável, dado pela divisão do valor do resíduo associado a *i*-ésima observação, pelo seu respectivo desvio-padrão, foi realizada por meio do teste de Shapiro-Wilk, cujos valores da estatística *W* foram gerados por meio do procedimento “*univariate*”, seguido das expressões “*data* = nome do arquivo dos resíduos padronizados” e “*normal*” (SAS 2012). Simultaneamente, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a aderência dos dados das variáveis à distribuição de Poisson.

A análise estatística foi realizada com base na teoria dos modelos lineares generalizados (MLG). A estimação dos parâmetros dos modelos foi obtida utilizando-se do método da máxima verossimilhança. As funções de ligação canônicas  $g(\mu) = \mu$  e  $g(\mu) = \ln(\mu)$  foram adotadas para as variáveis que apresentaram melhor aderência às distribuições normal e de Poisson, respectivamente.

O ajuste dos MLG aos dados das variáveis com distribuição de Poisson foi realizado a partir do ajuste de um modelo representado por

$$\eta = \ln(\mu) = \mu + H_i + T_j + HT_{ij} + \sum_{K=1}^4 X_K + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

$\mu$  = constante inerente a todas as observações ou efeito da média geral;

$H_i$  = efeito do  $i$ -ésimo híbrido ( $i = 1$  e  $2$ ), considerado como uma variável classificatória;

$T_j$  = efeito do  $j$ -ésimo tempo ( $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  e  $8$ );

$HT_{ij}$  = efeito de interação entre o  $i$ -ésimo híbrido e o  $j$ -ésimo tempo;

$X_1$  = efeito de temperatura do ar;

$X_2$  = efeito de umidade relativa;

$X_3$  = efeito de velocidade do vento;

$X_4$  = efeito de radiação solar; e

$\varepsilon_{ijk}$  é o erro aleatório.

Para seleção dos termos dos modelos, os efeitos de horas do dia, híbrido de canola, interação tempo x híbrido e das covariáveis (temperatura do ar, umidade relativa, velocidade do vento e radiação) sobre as variáveis analisadas foram verificados utilizando-se da análise estatística da taxa de verossimilhança (análise do tipo 3), que não depende da ordem de entrada dos fatores nos modelos (SAS 2012).

A significância dos coeficientes foi avaliada utilizando-se da estatística de Wald ( $X^2$ ). A qualidade de ajuste do modelo sob pesquisa aos dados observados foi avaliada ao se comparar o valor calculado de “scaled deviance” ( $S_p$ ) com os percentis da distribuição  $\chi^2_{n-p(\alpha)}$  (McCullagh e Nelder 1989).

A análise MLG foi codificada por meio do procedimento GENMOD, utilizando a opção SCALE = DEVIANCE após o comando MODEL. O nível de 5% de significância foi adotado em todos os testes estatísticos. Todas as análises foram feitas utilizando-se o *software* Statistical Analysis System (SAS 2012).

## Resultados

Os híbridos de *B. napus* avaliados atraíram algumas espécies de visitantes florais. Dentre os insetos foram amostrados 1.335 indivíduos, divididos em três ordens. *A. mellifera* africanizada (Hymenoptera: Apidae) apresentou a maior abundância entre os visitantes (89%), seguida por *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) (6,1%), dípteros (Diptera: Cyclorrhapha) (3,5%), *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae) (0,90%) e ordem Lepidoptera (0,5%).

As abelhas africanizadas coletoras de néctar foram mais frequentes (90%) em relação àquelas que coletaram somente o pólen (3%) ou ambos os recursos néctar e pólen (7%). As abelhas africanizadas visitaram em média  $12,9 \pm 1,40$  flores em 1 min e

2,96 ± 1,09 flores em uma única planta em 1 min. O tempo de permanência de *A. mellifera* nas flores de *B. napus* foi de 4,2 ± 1,6 segundos.

Os dados experimentais das visitas por *A. mellifera* coletoras de pólen, ordem Diptera, *T. spinipes* e ordem Lepidoptera não apresentaram distribuição normal de probabilidades. As amostras de tais características apresentaram aderência à distribuição de Poisson, pelo teste de Komogorov-Smirnov, que também melhor se adequou aos dados de visitas de *A. mellifera* coletoras de néctar e pólen e de *D. speciosa*. Entretanto, a análise dos MLG das variáveis *T. spinipes* e ordem Lepidoptera apresentaram problemas de convergência de algoritmo, impossibilitando o ajuste quando a função de ligação  $g(\mu) = \ln(\mu)$  da distribuição de Poisson foi empregada. Por essa razão, foi utilizada a função de ligação identidade  $g(\mu) = \mu$  da distribuição normal para tais características. Os dados de visitas de *A. mellifera* coletoras de néctar apresentaram maior aderência à distribuição normal (Tabela 1).

A qualidade do ajuste dos modelos lineares generalizados (MLG) aos dados de forrageamento de insetos na cultura de *B. napus* foi avaliada pela estatística “scaled deviance” (Tabela 2).

A partir do resumo da análise estatística do tipo 3, referentes aos valores de probabilidade ( $P$ ) relacionados às fontes de variação incluídas no modelo estatístico, verificou-se efeito de híbrido ( $P < 0,0001$ ), horário ( $P = 0,0021$ ) e temperatura ( $P = 0,0007$ ) para a taxa de visitas de *A. mellifera* coletoras de néctar. Houve efeito de horário ( $P = 0,0003$ ), temperatura ( $P = 0,0003$ ), umidade relativa ( $P = 0,0032$ ), vento ( $P = 0,0109$ ) e radiação ( $P < 0,0001$ ) para o comportamento de visitas de abelhas africanizadas coletoras de pólen. Observou-se efeito de horário ( $P = 0,0033$ ), umidade relativa ( $P = 0,0005$ ) e vento ( $P = 0,0028$ ) para o forrageamento das abelhas africanizadas coletoras de néctar e pólen.

A taxa de visitas de *D. speciosa* e ordem Diptera foram afetadas pelo híbrido de canola ( $P = 0,0325$  e  $P = 0,0046$ , respectivamente) e horário ( $P = 0,0002$  e  $P = 0,0391$ , respectivamente). Houve efeito de horário ( $P = 0,0005$ ) para o forrageamento de *T. spinipes*. Para a taxa de visitas da ordem Lepidoptera houve efeito de híbrido ( $P = 0,0021$ ), horário ( $P = 0,0010$ ), temperatura ( $P < 0,0001$ ) e radiação ( $P < 0,0001$ ).

As estimativas dos parâmetros dos modelos e o nível descritivo para as variáveis explicativas analisadas estão contidas na Tabela 3. Estimativas significativas foram encontradas para os parâmetros dos modelos, pois observando os valores de probabilidades percebe-se que os parâmetros estimados para as variáveis analisadas são



estatisticamente diferentes de 0 a 1 nível de confiança de 95% ( $P < 0,05$ ), a exceção do intercepto no modelo ajustado para a variável abelhas africanizadas coletoras de néctar (Tabela 3).

A taxa de visitas das abelhas africanizadas com comportamento para coleta de néctar, pólen e de ambos os recursos florais teve influência negativa com o horário do dia, enquanto a temperatura influenciou positivamente, com exceção para as coletoras de néctar e pólen, na qual não houve efeito significativo da temperatura. A umidade relativa do ar teve interferência positiva com a visitação de abelhas africanizadas com comportamento único para pólen, enquanto para as coletoras de néctar e pólen houve influência negativa. A velocidade do vento teve influência negativa com a taxa de visitas de *A. mellifera* coletoras de pólen e de néctar e pólen. A radiação solar influenciou positivamente a visitação de abelhas com comportamento para pólen (Tabela 3).

O comportamento de forrageamento de *D. speciosa*, ordem Diptera, *T. spinipes* teve influência positiva com o horário do dia. Além disso, houve influência positiva da temperatura e negativa do horário e radiação solar para o número de visitas de lepidópteros às flores de canola (Tabela 3).

As equações de regressão estimadas por meio dos MLG para cada híbrido estão contidas na Tabela 4. As abelhas africanizadas com comportamento único para néctar e a ordem Diptera foram mais frequentes nas flores do híbrido Hyola 433, enquanto *D. speciosa* e ordem Lepidoptera apresentaram maior preferência pelas flores do genótipo Hyola 61 (Tabela 4).

As equações de regressão estimadas para cada híbrido, realizada por meio dos MLG, evidenciaram que a estimativa da taxa de visitas de abelhas africanizadas coletoras de néctar será maior quando ocorrer temperaturas elevadas (entre 28°C e 34°C) e horários matutinos, especialmente entre 8 e 10h. Porém, essa combinação de horários entre 8 e 10h e maiores temperaturas não ocorreu nas circunstâncias experimentais. No experimento observou-se que a maior visitação média das abelhas africanizadas coletoras de néctar ocorreu às 11h25min e 14h25min quando a temperatura média do horário foi de 25°C e 28,1°C, respectivamente, para os híbridos Hyola 433 (Fig. 1) e 61 (Fig. 2).

O pico médio de visitas de abelhas coletoras de pólen, estimado por meio das estimativas dos parâmetros do modelo (Tabela 3), independentemente do híbrido avaliado, foi às 11h25min, quando a temperatura média registrada do horário foi de

24.5°C, a umidade relativa do ar de 52%, a velocidade do vento 6 m.s<sup>-1</sup> e a radiação solar 2134.85 kJ.m<sup>2</sup>. Para as abelhas coletoras de néctar e pólen, o pico médio de visitas ocorreu às 14h25min, quanto a umidade relativa média do período foi de 41% e a velocidade do vento de 5 m.s<sup>-1</sup>, independentemente do híbrido avaliado.

Por outro lado, o pico de visitas de *D. speciosa*, dípteros, *T. spinipes* ocorreu às 17h, independentemente do híbrido de canola avaliado.

## Discussão

Algumas espécies de insetos foram observadas visitando as flores de *B. napus*, mas a sua importância como polinizadores efetivos ficou evidente para *A. mellifera* africanizada, *T. spinipes* e lepidópteros.

As abelhas africanizadas e os lepidópteros quando coletam o néctar acidentalmente aderem o pólen das anteras nos seus pelos. Assim, quando esses insetos voam para a flor seguinte ocorre a queda de parte do pólen aderido ao seu corpo, influenciando no processo de polinização cruzada (Abrol 2007).

As abelhas africanizadas foram os insetos visitantes mais frequentes em canola (89%). Isso pode ter ocorrido pela proximidade de um apiário com seis colônias de abelhas africanizadas a 1 km da área experimental.

No município de Três de Maio, Rio Grande do Sul, Brasil, na cultura de *B. napus*, localizada a 0,2 km e 1 km de distância de dois apiários com 18 e 20 colônias de abelhas africanizadas, respectivamente, as abelhas *A. mellifera* foram as visitantes florais mais frequentes (99,83%), seguida de dípteros, coleópteros e lepidópteros (Rosa et al. 2011).

Em Isfahan, Irã, o inseto polinizador mais frequente em canola foi a *A. mellifera*, correspondendo a 50% do total de visitantes florais, seguida da ordem Diptera (Pordel et al. 2007). No município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, foram observados nas inflorescências de *B. napus*, dípteros da família Chloropidae, *Trigona* sp., *A. mellifera* e *Brachygastra lecheguana* como potenciais polinizadores (Mussury et al. 2003). Em *B. Campestris* foram observadas 18 espécies de polinizadores, sendo a *A. mellifera* o inseto dominante, com 57,45% (Kumar et al. 1994). Em Jaboticabal, São Paulo, Brasil, as espécies com maior frequência de visitas foram *A. mellifera* (80,6%), seguida por *T. spinipes* (12,8%) e *Dialictus* sp. (Adegas e Nogueira-Couto 1992).

Investigações no presente estudo evidenciaram que as abelhas africanizadas visitaram poucas flores por planta ( $2,96 \pm 1,09$  flores) e permaneceram pouco tempo sobre as flores ( $4,2 \pm 1,6$  segundos), sugerindo que as flores de canola secretam grandes quantidades de néctar.

A visita a poucas flores por planta, a curta permanência sobre as flores, o contato das abelhas com anteras e estigma e a plena constância floral constituem evidência que *A. mellifera* africanizada são potenciais polinizadoras em canola (Free 1993, McGregor 1976, Rosa et al. 2010). A canola é altamente atrativa para *A. mellifera*, fornecendo néctar e pólen. Além disso, essas abelhas são do tamanho adequado para a efetiva transferência de pólen das anteras para o estigma (Abrol 2012).

As abelhas irapuã (*T. spinipes*) coletaram exclusivamente pólen, permanecendo na flor o tempo médio de  $36 \pm 23$  segundo por flor. Adegas e Nogueira-Couto (1992) observaram que *T. spinipes* coletou exclusivamente pólen e permaneceram em média  $52 \pm 42$  s na flor de canola, enquanto as abelhas africanizadas coletoras de néctar  $3,5 \pm 0,4$  s. Os mesmos autores relataram que o maior tempo de permanência de *T. spinipes* nas flores de canola comparado às abelhas africanizadas deve-se ao comportamento destas abelhas, de perfurar as flores para coletarem o pólen, o que reduz a produção de siliquis em 86%. Por outro lado, em canola foi constatado que tanto as abelhas africanizadas quanto a *T. spinipes* agem favorecendo o processo de polinização cruzada (Kotaka et al. 2000).

As observações referentes ao comportamento de *T. spinipes* em flores de canola no presente estudo não indicaram danos às estruturas florais. Portanto, essas abelhas podem ser importantes no processo de polinização cruzada, embora a sua frequência tenha sido baixa na cultura (0,90%).

O comportamento de coleta observado em *A. mellifera* forrageando nas flores de canola foi típico de coletoras de néctar (90%) e, raramente, foram observadas operárias coletoras com comportamento único para pólen (3%) ou ambos os recursos (7%). Resultados semelhantes também foram observados nas culturas de *B. napus* (Free e Nuttall 1968), *Coffea arabica* (Malerbo-Souza et al. 2003), *Glycine max* (Chiari et al. 2011, Chiari et al. 2013) e *Helianthus annuus* (Chambó et al. 2011). Portanto, os resultados obtidos constituem evidência de que as abelhas africanizadas com comportamento único para coleta de néctar exercem maior influência no processo de polinização cruzada em *B. napus*.

Por meio das “deviances” dos modelos e respectivos graus de liberdade, percebe-se que a medida valor da “deviance” dividido pelo grau de liberdade (gl) tem valores próximos ou iguais a 1 (Tabela 2), indicando que não há evidências de falta de ajuste aos dados de forrageamento dos insetos às flores (Myers et al. 2002).

O padrão de forrageamento dos insetos observados na cultura da canola foram resultados de interações bióticas e abióticas. A taxa de visitas de *A. mellifera* africanizada e ordem Lepidoptera teve influência negativa do horário do dia, enquanto, *D. speciosa*, dípteros e *T. spinipes* foram influenciados positivamente.

Alguns trabalhos relataram picos de atividades para coleta de alimentos não coincidentes entre os distintos visitantes florais em uma mesma espécie vegetal. Por exemplo, em *Schefflera arboricola* foi constatado que a *A. mellifera* inicia suas visitas por volta das 05h30min, cessando as visitas às 8h, enquanto os meliponíneos iniciam suas atividades de coleta às 6h30min. (Menezes et al. 2007). Na planta *Matayba guianensis*, comum no cerrado brasileiro e que apresenta morfologia floral generalista, foi observado que a *A. mellifera* foi coletada em menor número no horário das 8h às 9h, quanto ocorreu pico de *Scaptotrigona depilis*. As outras espécies menos frequentes na área, como *Rophitulus* sp. e *T. angustula* tiveram padrão de forrageamento similar a *S. depilis* (Carvalho e Oliveira 2010).

Os visitantes florais que forrageiam em uma dada espécie vegetal frequentemente exploram recursos contrários ou são ativos em horas diferentes. É possível que adaptações seletivas, ao longo dos anos, tenham operado de modo a eliminar ou evitar um confronto prolongado direto entre as espécies, fomentando o princípio da exclusão competitiva (Odum 2012). As abelhas, como qualquer outro organismo, terão maior competição coexistindo com membros da sua própria espécie e, com outras espécies do mesmo gênero, pois essas abelhas tendem a ser semelhantes, por exemplo, em tamanho, estrutura da colônia, divisão do trabalho e estratégias de forrageamento (Beismeijer e Slaa 2006).

Assim, supõe-se que essa separação na atividade diária para o comportamento de coleta foi o que permitiu, ao longo dos anos, a coexistência dos insetos *A. mellifera*, *D. speciosa*, *T. spinipes*, dípteros e lepidópteros na busca por recursos florais em canola. Além disso, o comportamento de visitas destes visitantes florais, especialmente da *A. mellifera*, *T. spinipes* e lepidópteros em horários distintos, pode ser importante em canola para assegurar uma efetiva polinização. A interação de *A. mellifera* e de outras espécies de abelhas nativas resultaram no aumento da eficiência do processo de

polinização em *Helianthus annuus* do que a presença única de *A. mellifera* (DeGrandi-Hoffman e Watkins 2000, Greenleaf e Kremen 2006).

As espécies de abelhas variam em sua preferência para a concentração de açúcar no néctar (Toledo et al. 2011). As flores de canola possuem um néctar mais concentrado no período vespertino, principalmente no final da tarde, em comparação ao período matutino (Abrol e Shankar 2012). Por conseguinte, embora as abelhas africanizadas coletoras de néctar fossem mais frequentes na cultura (90%), elas não foram tão ativas no período em que este recurso estava mais concentrado, ou seja, no final do dia, como foram os demais visitantes florais.

Assim, a hipótese é que processos adaptativos semelhantes àqueles ocorridos com os insetos também tenham ocorrido em *B. napus*, como variações na concentração do néctar ao longo do dia. Esses possíveis mecanismos adaptativos podem ter sido importantes para a planta atrair um maior espectro de visitantes florais, uma vez que os insetos possuem preferências por determinado conteúdo ou concentração do néctar secretado.

Além disso, as abelhas africanizadas e os dípteros foram mais frequentes no genótipo Hyola 433 (Figs. 1 e 2), enquanto, *D. speciosa* e lepidópteros no híbrido Hyola 61. Em um estudo realizado com 71 genótipos de *B. napus* foi relatado que ocorreram variações entre os genótipos de canola em relação ao volume, composição e secreção do néctar ao longo do dia (Pierre et al. 1999). Essas variações, bem como a disponibilidade do pólen durante o dia podem ser utilizadas como padrão discriminativo para os polinizadores na seleção da melhor fonte de alimento (Chambó et al. 2011). Embora neste trabalho esses fatores não tenham sido determinados, é possível que essas diferenças tenham sido os responsáveis pela maior frequência das abelhas africanizadas e dípteros no híbrido Hyola 433 e dos demais visitantes florais no genótipo Hyola 61.

Por outro lado, Mussury et al. (2003) relataram que o aumento da frequência de outros visitantes florais não *Apis* foi pela redução da população das abelhas africanizadas, uma vez que são competidores pela mesma fonte de alimento. Entretanto, o fato de os insetos terem padrões de forrageamento em horários diferentes do dia, e em híbridos diferentes, não significa, evidentemente, que a competição esteja operando o tempo todo para mantê-las separadas. As espécies podem ter desenvolvido necessidades ou preferências diferentes, que impedem eficazmente a competição interespecífica (Odum 2012).

A coexistência dos visitantes florais na cultura da canola, possivelmente foi pela abundância de flores, ou seja, da disponibilidade de recursos florais. Possivelmente, em situações de escassez de alimentos, uma espécie estreitamente aparentada pode sucumbir à outra na busca por recursos alimentares em um mesmo hábitat.

A taxa de visitas de abelhas africanizadas coletoras de néctar, de pólen e lepidópteros teve influência positiva da temperatura, indicando que esse fator interfere nas atividades de coleta de alimentos para esses insetos. A taxa de visitas de abelhas melíferas coletoras de néctar e de pólen será maior quando ocorrer temperaturas elevadas e horários matutinos. Para os lepidópteros, os horários matutinos, atrelado a maiores temperaturas e menor radiação solar, favorecem a maior visitação. Em outros estudos, a frequência de abelhas também foi maior com o aumento da temperatura do ar (Kwon e Saeed 2003, Mussury et al. 2003, Abrol 2006, Pordel et al. 2007, Malerbo-Souza e Silva 2011).

O aumento da radiação solar ocasionou maior taxa de visitas de abelhas coletoras de pólen, enquanto a diminuição deste fator climático promoveu maior visitação de lepidópteros. Muitos insetos também são dependentes da radiação solar para atingir a temperatura necessária para a atividade e voo (Kearns e Inouye 1993). Possivelmente os lepidópteros sejam mais sensíveis ao aumento da radiação solar.

A umidade relativa do ar influenciou positivamente a taxa de visitas das abelhas coletoras de pólen e negativamente as das coletoras de néctar e pólen. Malerbo-Souza e Silva (2011) relataram que a umidade relativa foi um fator limitante para a coleta de néctar, devendo estar no mínimo acima dos 40%.

Altas temperaturas associadas com baixa umidade relativa do ar podem promover a evaporação da água contida no néctar, diminuindo a disponibilidade deste recurso na flor, tornando essas menos atrativas aos polinizadores (Cobert et al. 1979). Possivelmente, a umidade relativa do ar por si só não seja susceptível de ter um impacto direto sobre a atividade de visita dos insetos as flores, mas indiretamente por causa do seu efeito sobre a planta ou pela sua associação com a temperatura.

A velocidade do vento influenciou negativamente a atividade de forrageamento das abelhas coletoras de pólen e de néctar e pólen, enquanto não houve efeito deste fator sobre as abelhas que coletaram exclusivamente o néctar. Isso possivelmente ocorreu em decorrência do maior peso das abelhas coletoras de pólen e de néctar e pólen em comparação às abelhas que coletam exclusivamente o néctar. O maior peso destas

abelhas dificulta os seus voos, diminuindo as suas visitas na cultura conforme aumenta a velocidade do vento.

Em geral, a adequação da atividade de forrageamento ideal da abelha varia de estação para estação, dependendo das regiões geográficas, bem como da cultura agrícola e da espécie de inseto (Abrol 2006).

A abundância de visitantes florais em canola acompanha a variação dos fatores abióticos ao longo do dia, principalmente, a temperatura, umidade relativa, velocidade do vento e radiação solar. O comportamento de *A. mellifera* africanizada é um indicativo de que esta espécie é uma polinizadora potencial em *B. napus*.

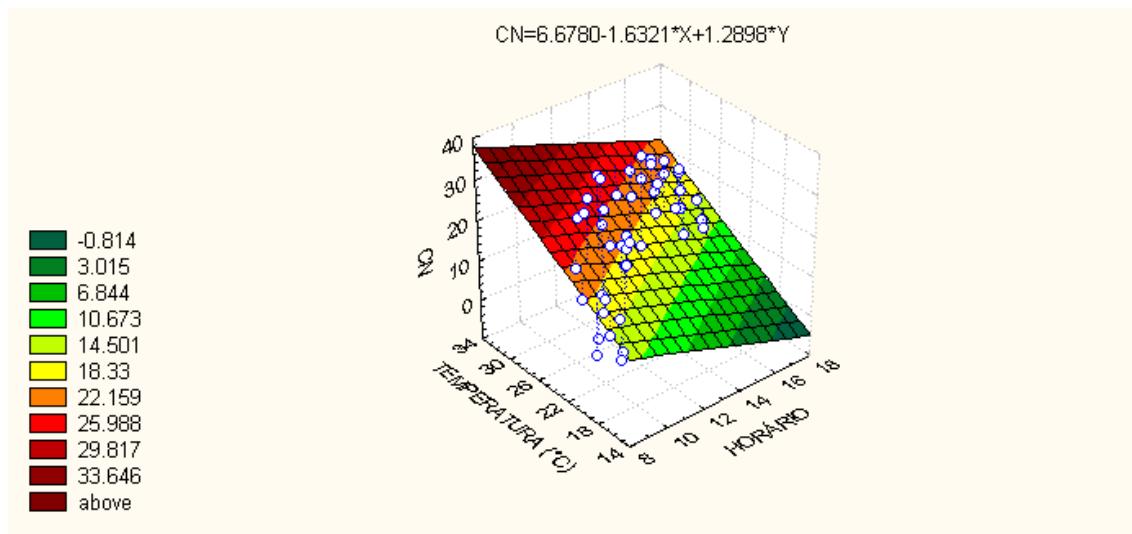
### Referências Citadas

- Adegas, J. E. B., and R. H. Nogueira-Couto. 1992.** Entomophilous pollination in rape (*Brassica napus* L. var *oeifera*) in Brazil. *Apidologie* 23: 203-209.
- Abrol, D. P. 2006.** Diversity of pollinating insects visiting litchi flowers (*Litchi chinensis* Sonn.) and path analysis of environmental factors influencing foraging behaviour of four honeybee species. *J. Apic. Res.* 45: 180-187.
- Abrol, D. P. 2007.** Honeybees and rapeseed: a pollinator-plant interaction. *Adv. Bot. Res.* 45: 337-367.
- Abrol, D. P. 2012.** Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production. Springer, New York, NY.
- Abrol, D. P., and U. Shankar. 2012.** Pollination in oil crops: recent advances and future strategies, pp. 221-267. *In* S. K. Gupta (ed.), Technological innovations in major world oil crops, vol. 2. Springer, New York, NY.
- Araneda-Durán, X. A., R. B. Ulloa, J. A. Carrillo, J. L. Contreras, and M. T. Bastidas. 2010.** Evaluation of yield component traits of honeybee-pollinated (*Apis mellifera* L.) rapeseed canola (*Brassica napus* L.). *Chil. J. Agric. Res.* 70: 309-314.
- Becker, H. C., C. Damgaard, and B. Karlsson. 1992.** Environmental variation for outcrossing rate in rapeseed (*Brassica napus*). *Theor. Appl. Genet.* 84: 303-306.
- Biesmeijer, J. C., and E. L. Slaa. 2006.** The structure of eusocial bee assemblages in Brazil. *Apidologie* 37: 240-258.
- Carvalho, A. M. C., and P. E. A. M. Oliveira. 2010.** Estrutura da guilda de abelhas visitantes de *Matayba guinensis* Aubl. (Sapindaceae) em vegetação do Cerrado. *Oecol. Aust.* 14: 40-66.
- Chambó, E. D., R. C. Garcia, N. T. E. Oliveira, and J. B. Duarte-Júnior. 2011.** Honey bee visitation to sunflower: effects on pollination and plant genotype. *Sci. Agric.* 68: 647-651.
- Chiari, W. C., M. C. C. Ruvolo-Takasusuki, E. D. Chambó, C. A. Arias, C. B. Hoffmann-Campo, and V. A. A. Toledo. 2011.** Gene flow between conventional and transgenic soybean pollinated by honeybees. *In* Hasaneen, M. N. A. G. (ed). *Herbicides – Mechanisms and mode of action*. InTech, Rijeka, Croatia. Disponível em: (<http://www.intechopen.com/books/herbicides-mechanisms-and-mode-of-action/gene-flow-between-conventional-and-transgenic-soybean-pollinated-by-honeybees>).

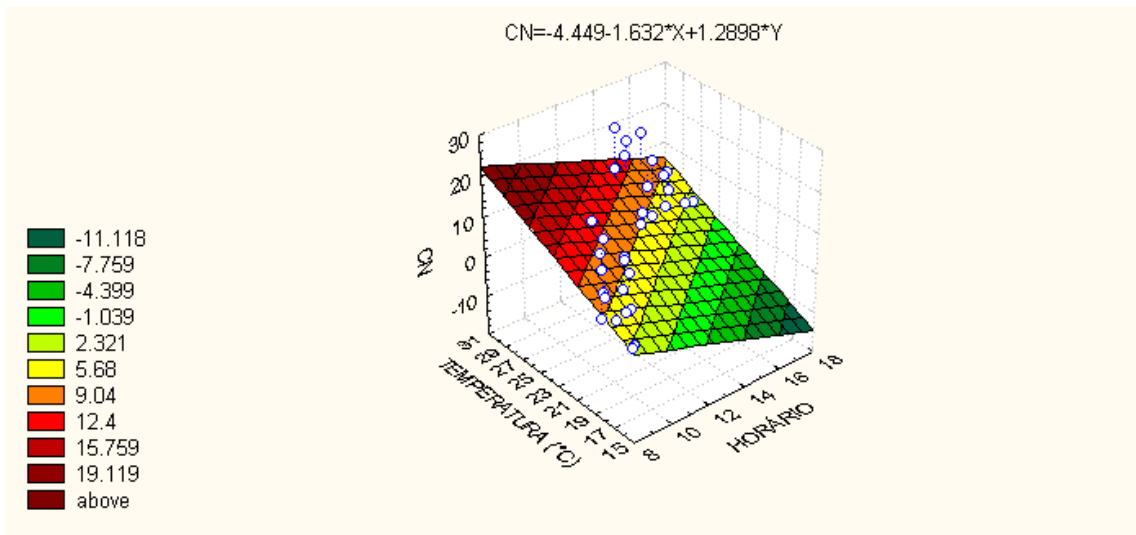
- Chiari, W. C., C. B. Hoffmann-Campo, C. A. Arias, T. S. Lopes, T. C. O. A. Toledo, E. D. Chambó, M. C. C. Ruvolo-Takasusuki, and V. A. A. Toledo. 2013.** Floral biology and Africanized honeybee behaviour in transgenic (Roundup Ready™ var. BR-245 RR) and conventional (var. BRS-133) soybean (*Glycine max* L. Merrill) flowers. In A. Price (ed.), *Herbicides*, book 2. InTech, Rijeka, Croatia. (em impressão).
- Cobert, S. A., P. G. Willmer, J. W. L. Beament, D. M. Unwin, and O. E. Preys-Jones. 1979.** Post-secretory determinants of sugar concentration in nectar. *Plant Cell Environ.* 2: 293-308.
- (CONAB) Companhia Nacional de Abastecimento. 2013.** Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento, janeiro 2013. Conab, Brasília, DF. (<http://conab.gov.br>).
- Dafni, A., P. G. Kevan, and B. C. Husband. 2005.** *Practical pollination biology*. Enviroquest, Ontario, Canadá.
- DeGrandi-Hoffman, G., and J. C. Watkins. 2000.** The foraging activity of honey bees *Apis mellifera* and non-*Apis* bees on hybrid sunflower (*Helianthus annuus*) and its influence on cross-pollination and seed set. *J. Apic. Res.* 39: 37-45.
- Free J. B., and P. H Nuttall. 1968.** The pollination of oilseed rape (*Brassica napus*) and the behaviour of bees on the crop. *J. Agric. Sci.* 71: 91-94.
- Free, J. B. 1993.** *Insect pollination of crops*, 2nd ed. Academic Press, London, UK.
- Greenleaf, S. S., C. Kremen. 2006.** Wild bees enhance honey bees pollination of hybrid sunflower. *PNAS.* 37: 13890-13895.
- Kearns, C. A., and D. W. Inouye. 1993.** *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot, Colorado.
- Kotaka, C. S., M. H. Mitsui, R. E. Vieira, Y. Terada, V. A. A. Toledo, L. C. V. Ítavo, and L. R. Ribeiro. Polinização por abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em cultura de canola (*Brassica napus* e *B. campestris*, Cruciferae) na região de Maringá, PR, pp. 510. In Symposium: 37ª Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 24-27 de julho 2000, Viçosa, MG.**
- Kwon, Y. J., and S. Saeed. 2003.** Effect of temperature on the foraging activity of *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) on greenhouse hot pepper (*Capsicum annum* L.). *Appl. Entomol. Zoo.* 38: 275-280.
- Kumar, J., K. V. K. Rao, and J. K. Gupta. 1994.** Pollination efficiency of bees visiting blossom of *Brassica campestris* L. var. toria in mid hills of Himachal Pradesh, India. *Indian Bee J.* 56: 202-206.
- Malerbo-Souza, D. T., R. H. Nogueira-Couto, L. A. Couto, and J. C. Souza. 2003.** Atrativo para as abelhas *Apis mellifera* e polinização em café (*Coffea arábica* L.). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 40: 272-278.
- Malerbo-Souza, D. T., and F. A. S. Silva. 2011.** Comportamento forrageiro da abelha africanizada *Apis mellifera* L. no decorrer do ano. *Acta Sci., Anim. Sci.* 33: 183-190.
- McCullagh, P., and J. A. Nelder. 1989.** *Generalized linear models*. Chapman and Hall, London, UK.
- McGregor, S. E. 1976.** *Insect pollination of cultivated crop plants*. USDA, Washington, D.C.
- Menezes, C. S., C. I., Singer, R. B., and Kerr, W. E. 2007.** Competição entre abelhas durante forrageamento em *Schefflera arboricola* (Hayata) Merr. *Biosci. J.* 23: 63-69.
- Mesquida, J., M. Renard, and J. S. Pierre. 1988.** Rapeseed (*Brassica napus* L.) productivity the effect of honeybees (*Apis mellifera* L.) and different pollination conditions in cage and field tests. *Apidologie* 19: 51-72.



- Mussury, R. M., W. D. Fernandes, and S. P. Q. Scalon. 2003.** Atividade de alguns insetos em flores de *Brassica napus* L. em Dourados-MS e a interação com fatores climáticos. *Cienc. Agrotec.* 27: 382-388.
- Myers, R. H., D. C. Montgomery, and G. G. Vining. 2002.** Generalized linear models, with applications in engineering and the sciences. John Wiley and Sons Press, New York, NY.
- Nagae, C. M. L., C. Candolo, and M. S. A. Moura. 2008.** Uma aplicação de modelos para dados de contagem inflacionados de zeros na modelagem do número de ovos do mosquito *Aedes aegypti*. *RBB.* 26: 99-114.
- Odum, E. P. 2012.** Ecologia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ.
- Pierre, J., J. Mesquida, R. Marilleau, M. H. Pham-Delègue, and M. Renard. 1999.** Nectar secretion in winter oilseed rape, *Brassica napus* – quantitative and qualitative variability among 71 genotypes. *Plant Breed.* 118: 471-476.
- Pordel, M. R., B. Hatami, M. Mobli, and R. Ebadi. 2007.** Identification of insect pollinators of three different cultivars of winter canola and their effect on seed yield in Isfahan. *J. Sci. Technol. Agric. Nat.l Resour.* 10: 413-426.
- Potts, S. G., A. Dafni, and G. Ne'eman. 2001.** Pollination of a core flowering shrub species in Mediterranean phrygana: variation in pollinator diversity, abundance and effectiveness in response to fire. *Oikos* 92: 71-80.
- Rosa, A. S., B. Blochtein, N. R. Ferreira, and S. Witter. 2010.** *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as a potential *Brassica napus* pollinator (cv. Hyola 432) (Brassicaceae), in Southern Brazil. *Braz. J. Biol.* 70: 1075-1081.
- Rosa, A. D. S., B. Blochtein, and D. K. Lima. 2011.** Honey bee contribution to canola pollination in Southern Brazil. *Sci. Agric.* 68: 255-259.
- Ruiz, R. C., R. M. Assunção, and R. A. Leandro. 2003.** Modelos hierárquicos bayesianos para estudar a distribuição espacial da infestação da broca do café em nível local. *Rev. Colomb. Estad.* 26: 1-24.
- Sabbahi, R., D. Oliveira, and J. Marceau. 2005.** Influence of honey bee (Hymenoptera: Apidae) density on the production of canola (Crucifera: Brassicaceae). *J. Econ. Entomol.* 98: 367-372.
- SAS Institute. 2012.** SAS/STAT user's guide, version 9.3. SAS Institute, Cary, NC.
- Toledo, V. A. A., M. C. C. Ruvolo-Takasusuki, A. J. B. Oliveira, E. D. Chambó, and S. M. S. Lopes. 2011.** Spectrophotometry as a tool for dosage sugars in néctar of crops pollinated by honeybees. *In* J. Uddin (ed.), *Macro to nano spectroscopy*. InTech, Rijeka, Croatia. (<http://www.intechopen.com/books/macro-to-nano-spectroscopy/spectrophotometry-as-a-tool-for-dosage-sugars-in-nectar-of-crops-pollinated-by-honeybees>).
- Tomm, G.O. 2008.** Canola uma nova fase do cultivo no Brasil: produção com seguro e todo o suporte ao produtor. *Rev. Plantio Direto* 17: 4-6.
- (USDA) United States Department of Agriculture. 2012.** World agricultural production. USDA, Washington, D.C. (<http://usda01.library.cornell.edu/usda/fas/worldag-production//2010s/2011/worldag-production-05-11-2011.pdf>).
- Westcott, L., and D. Nelson. 2001.** Canola pollination: an update. *Bee World* 82: 115-129.



**Fig. 1.** Gráfico de superfície de resposta dos efeitos de horário do dia e temperatura em função do número de abelhas *A. mellifera* coletoras de néctar no híbrido Hyola 433.



**Fig. 2.** Gráfico de superfície de resposta dos efeitos de horário do dia e temperatura em função do número de abelhas *A. mellifera* coletoras de néctar no híbrido Hyola 61.

**Tabela 1.** Valores das estatísticas calculadas de Shapiro-Wilk (W) e Kolmogorov-Smirnov (d)

Variável	Estatística calculada	
	W	d
CN	0,9892 (0,7446)	0,2936 (<0,01)
CP	0,9452 (0,0018)	0,0374 <sup>ns</sup>
CNP	0,9707 (0,0631)	0,1338 (<0,15)
<i>Diatropica speciosa</i>	0,9723 (0,0790)	0,1242 (<0,20)
Diptera	0,9253 (0,0002)	0,1123 <sup>ns</sup>
<i>Trigona spinipes</i>	0,8985 (0,0001)	0,0039 <sup>ns</sup>
Lepidoptera	0,7049 (0,0001)	0,0223 <sup>ns</sup>

<sup>(1)</sup> Os valores entre parênteses representam o *P*-valor. CN - *A. mellifera* coletoras de néctar; CP - *A. mellifera* coletoras de pólen; e CNP - *A. mellifera* coletora de néctar e pólen.

**Tabela 2.** Resultados dos valores da “scaled deviance” para mensurar a qualidade do ajuste dos modelos lineares generalizados

Variável	gl	“Deviance”-Valor	Valor/ gl “scaled deviance”	Log máxima verossimilhança
CN	76	80	1,0526	-268,8131
CP	74	74	1,0000	-80,1642
CNP	76	80	1,0526	-82,7052
<i>D. speciosa</i>	77	80	1,0390	-136,0552
Diptera	77	77	1,0000	-46,0295
<i>Trigona spinipes</i>	78	78	1,0000	-57,6590
Lepidoptera	75	75	1,0000	-47,7406

CN - *A. mellifera* coletoras de néctar; CP - *A. mellifera* coletoras de pólen; e CNP - *A. mellifera* coletora de néctar e pólen.

**Tabela 3.** Análise das estimativas dos parâmetros dos modelos estimados e nível descritivo

Visitação	Parâmetro	Estimativa	Erro-padrão	Intervalo de confiança (95%)		X <sup>2</sup>	P > X <sup>2</sup>
CN	Intercepto	6,6780	4,7769	-2,7982	16,1542	1,95	0,1621
	Híbrido	-11,1270	1,6109	-14,323	-7,9315	10,03	<0,0001
	Horário	-1,6321	0,5153	-2,6543	-0,6099	47,71	0,0015
	Temperatura	1,2898	0,3682	0,5594	2,0202	12,27	0,0005
CP	Intercepto	-13,6281	5,0058	-23,439	-3,8168	7,41	0,0065
	Horário	-0,5581	0,1508	-0,8536	-0,2625	13,69	0,0002
	Temperatura	0,3411	0,0953	0,1544	0,5278	12,82	0,0003
	Umidade	0,0982	0,0336	0,0324	0,1640	8,55	0,0035
	Vento	-0,3141	0,1246	0,0698	0,5584	6,35	0,0117
	Radiação	0,0023	0,0004	0,0015	0,0031	33,51	<0,0001
CNP	Intercepto	7,2643	1,7903	3,7128	10,8158	16,43	<0,0001
	Horário	-0,1998	0,0661	-0,3309	-0,0686	9,13	0,0025
	Umidade	-0,0513	0,0142	-0,0795	-0,0230	12,97	0,0003
	Vento	-0,1930	0,0627	-0,3174	-0,0687	9,48	0,0021
<i>D. speciosa</i>	Intercepto	-1,5577	0,6277	-2,7880	0,3273	6,16	0,0131
	Híbrido	0,6563	0,3025	0,0634	1,2491	4,71	0,0300
	Horário	0,1787	0,0463	0,0879	0,2694	14,90	0,0001
Diptera	Intercepto	-1,7726	0,8189	-3,3777	-0,1676	4,69	0,0304
	Híbrido	-1,1527	0,4553	-2,0450	-0,2604	6,41	0,0113
	Horário	0,1141	0,0567	0,0029	0,2252	4,05	0,0443
<i>T. spinipes</i>	Intercepto	-5,7616	1,3405	-8,3890	-3,1342	18,47	<0,0001
	Horário	0,2666	0,0868	0,0964	0,4367	9,42	0,0021
Lepidoptera	Intercepto	-15,7145	3,0392	-21,671	-9,7577	26,73	<0,0001
	Horário	-0,6452	0,7100	-1,0826	-0,2079	7,59	0,0059
	Híbrido	1,9564	0,2232	0,5647	3,3480	8,36	0,0038
	Temperatura	0,8815	0,2081	0,4736	1,2894	17,94	<0,0001
	Radiação	-0,0019	0,0005	-0,0029	-0,0008	11,66	0,0006

CN - *A. mellifera* coletoras de néctar; CP - *A. mellifera* coletoras de pólen; e CNP - *A. mellifera* coletora de néctar e pólen.

**Tabela 4.** Equações de regressão estimadas por meio dos modelos lineares generalizados para cada híbrido de canola

Variável	Híbrido	Equação
CN	Hyola 433	$\mu = 6,6780 - 1,6321\text{Horário} + 1,2898\text{Temperatura}$
	Hyola 61	$\mu = - 4,449 - 1,6321\text{Horário} + 1,2898\text{Temperatura}$
<i>D. speciosa</i>	Hyola 433	$\ln(\mu) = - 1,5575 + 0,1787\text{Horário}$
	Hyola 61	$\ln(\mu) = - 0,9014 + 0,1787\text{Horário}$
Dípteros	Hyola 433	$\ln(\mu) = - 1,7726 + 0,1141\text{Horário}$
	Hyola 61	$\ln(\mu) = - 2,9251 + 0,1141\text{Horário}$
Lepidópteros	Hyola 433	$\mu = - 15,7145 - 0,6452\text{Horário} + 0,8815\text{Temperatura} - 0,0019\text{Radiação.}$
	Hyola 61	$\mu = - 13,7581 - 0,6452\text{Horário} + 0,8815\text{Temperatura} - 0,0019\text{Radiação}$

## VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura da canola, embora autopolinizável, é beneficiada pela polinização realizada pelos insetos, em especial *A. mellifera* africanizada. Além disso, a época de semeadura dos híbridos de canola exerceu influência tanto para a planta quanto para os polinizadores. Embora a produtividade tenha sido maior em 25/05/2011 em relação à 25/06/2011 tanto nas áreas livres e cobertas com abelhas, o aumento dessas áreas em relação à área coberta sem insetos foi maior quando a semeadura ocorreu em 25/06/2011. As abelhas africanizadas conseguiram amenizar, pelo menos em parte, as limitações no rendimento de grãos causadas pelas condições climáticas menos satisfatórias para a cultura, em especial no segundo plantio.

Os resultados obtidos constituíram evidência que o processo de autopolinização em canola não é adequado ou eficiente comparado ao processo de polinização cruzada realizada pelas abelhas africanizadas para a fertilização dos óvulos e, conseqüentemente, para a produção de sementes. Além disso, quando as condições climáticas foram mais satisfatórias para o cultivo da canola, ou seja, em resposta à semeadura de 25/05/2011, o híbrido Hyola 433 teve 16,18% maior razão semente por óvulo comparado ao híbrido Hyola 61.

As flores de canola possuem protandria e mecanismos para ocorrência de alogamia, como pólen abundante, presença de osmóforos e coloração atraente, o que permite inferir também que suas flores possuem síndrome de melitofilia.

Nas condições experimentais, os visitantes florais mais frequentes em canola foram as abelhas africanizadas, com participação de 89% dentre o total de insetos amostrados, sendo as abelhas coletoras de néctar as que exercem maior influência na cultura.



A abundância de visitantes florais acompanhou a variação dos fatores abióticos ao longo do dia. As abelhas africanizadas foram mais ativas em horas diferentes dos outros visitantes florais e forragearam mais intensamente no híbrido Hyola 433 em relação ao Hyola 61, o qual foi mais atrativo aos demais visitantes florais, exceto para a os dípteros, constituindo evidência de coexistência entre as espécies na cultura.