

## Desafio e implementação da coleta de néctar de flores de soja em campo

COTRIM, G. S.<sup>1</sup>; TOYAMA, K. S. F.<sup>2</sup>; PARPINELLI, R. S.<sup>3</sup>; TOLEDO, V.A. A.<sup>3</sup>; HOFFMANN-CAMPO, C. B.<sup>4</sup>; GAZZONI, D. L.<sup>4</sup>; NUNES, E. O.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Unifil-Centro Universitário Filadélfia, Bolsista Embrapa-Bayer, gustavodscotrim@outlook.com ;

<sup>2</sup>UTFPR-Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Bolsista Embrapa; <sup>3</sup>UEM-Universidade Estadual de Maringá; <sup>4</sup>Pesquisador, Embrapa Soja.

### Introdução

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é a principal *commodity* agrícola do Brasil. Na safra de 2017/2018, estima-se o crescimento de área plantada de soja em 3,5% em relação aos outros anos, atingindo 35,1 milhões de hectares, com uma produtividade média de 3.333 Kg/ha (Conab, 2018); destacando Mato Grosso como o maior estado produtor de soja, seguido do Paraná e Rio Grande do Sul. Várias culturas agrícolas importantes para o Brasil, em nível de exportação como também da dieta dos brasileiros, dependem da polinização entomófila, principalmente realizadas por abelhas, para alcançarem níveis de produtividade adequados (Giannini et al. 2015).

A flor da soja caracteriza-se como racemo, o rendimento de grãos de soja pode ser determinado pelo número de flores que cada planta pode produzir, bem como a quantidade destas que geram vagens férteis. Observa-se que um número grande de flores não produz sementes, uma vez que o índice de abortos pode ser superior a 75% em algumas variedades (Free, 1993; Navarro Junior, 2002). Dentre os vários agentes polinizadores, os insetos se destacam por serem abundantes na natureza e ajustarem-se perfeitamente às diferentes estruturas florais (Free, 1993), e as abelhas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) apresentam-se como um dos mais eficientes agentes polinizadores, sendo responsáveis por 80% da polinização entomófila (McGregor, 1976).

A soja é uma planta autogâmica, sendo considerada como parcialmente dependente de polinização por insetos (Klein et al., 2007; Gallai et al., 2009; Gazzoni, 2017). A Polinização é um fenômeno natural que ocorre quando as anteras deiscem liberam o pólen e o estigma está receptivo até mesmo antes da abertura do conjunto floral (Erickson et al., 1978). Esta pode ocorrer

por meio da transferência dos grãos de pólen da antera de uma flor para o estigma de outra flor da mesma espécie, porém em pés diferentes com intervenção de agentes polinizadores como o vento (anemofilia) ou as abelhas (entomofilia). Isto pode ocorrer na própria planta, em que o grão de pólen é transportado para o estigma da flor (Freitas, 1995).

Nessa interação planta-inseto há uma troca entre os dois organismos, sendo o néctar uma recompensa floral importante para a visitação de abelhas nas flores. Algumas flores apresentam um guia definido de néctar, que consiste em linhas convergentes ao nectário. Esses guias são visíveis nas flores da soja, principalmente nas variedades que apresentam flores com diferentes tons de roxo, e ausentes em variedades brancas (Erickson e Garment, 1979). A quantifica o dos açucares a partir do nectarífero floral, nos permite o desenvolvimento de estudos associados com a visita o nas flores por abelhas que coletam néctar, e que polinizam várias espécies de plantas cultivadas.

Estudando a poliniza o de abelhas africanizadas em flores de soja (*G. max*) var. BRS 133, Chiari et al. (2005) observaram que a quantidade média de a u ar total e de glicose medidas do néctar das flores não apresentaram diferenças entre os tratamentos com e sem abelhas; os valores médios de a u ares totais e de glicose aferidos no néctar das flores foram  $14,33 \pm 0,96$  mg.flor<sup>-1</sup> e  $3,61 \pm 0,36$  mg.flor<sup>-1</sup>, respectivamente. Já, as concentra es dos sólidos totais apresentaram diferenças no tratamento coberto com abelhas  $22,33 \pm 0,38\%$  e  $21,33 \pm 0,22\%$  no tratamento livre. Portanto, concluíram que os dados apresentaram uma uniformidade, diferindo dos resultados obtidos por Sheppard et al. (1979) que observaram grandes varia es nas concentra es de néctar, e atribuíram essas diferenças às varia es a condi es edafoclimáticas.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi desenvolver uma técnica de coleta de néctar em flores de soja, para posterior determina o de açucares, através da adapta o de um protótipo que permitisse, de forma concomitante, manter a integridade da estrutura floral na planta e a eje o do néctar coletado de uma forma mais rápida e eficiente.

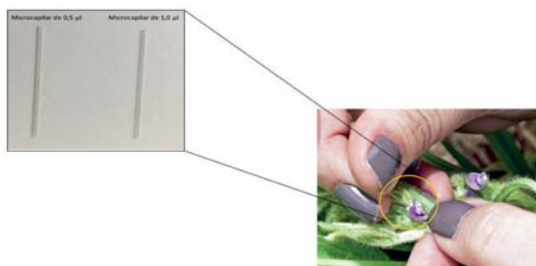
## Material e Métodos

Para obtenção do néctar de flores de soja foram testadas técnicas de coleta com o auxílio de microcapilares com capacidade de 0,5  $\mu\text{L}$  e 1,0  $\mu\text{L}$ . Para a ejeção do néctar de dentro do capilar foram testados três diferentes técnicas. A primeira delas consistiu no uso de uma microseringa para cromatografia, conforme descrito por Erickson (1979); a segunda, no uso de um êmbolo desenvolvido para os microcapilares e a terceira foi com o auxílio de um pipetador de sucção de borracha “conta gotas” para microcapilar.

Os possíveis meios de retirada desse néctar foram avaliados para a realização dos ensaios laboratoriais quanto a determinação e quantificação do perfil de carboidratos presentes no néctar por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As cultivares analisadas foram a BRS 317 e DM 6563. As amostras do néctar de flores de soja foram coletadas a campo e em casa-de-vegetação, acondicionadas em freezer  $-20^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises laboratoriais.

## Resultados e Discussão

O microcapilar com o volume de 0,5  $\mu\text{L}$  foi o mais viável dentre os métodos utilizados, pois possibilitou a coleta do néctar em flores de forma eficaz, ou seja, sem danificar as flores e/ou a estrutura do nectário floral (Figura 1). O volume médio de néctar obtido por flor foi de 0,25  $\mu\text{L}$ , sendo necessário a coleta do néctar de 10 flores para a obtenção de uma amostra.



**Figura 1.** Microcapilares de 0,5 $\mu\text{L}$  e 1,0 $\mu\text{L}$  utilizados no teste de coleta do néctar em flores de soja.

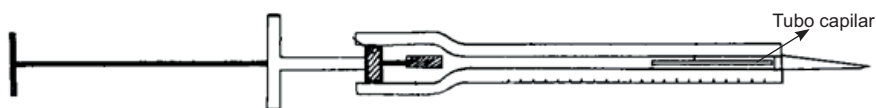
Informações relevantes quanto à forma, tamanho, localização dos nectários nas diferentes peças florais da planta, sua estrutura anatômica, época de florescimento, produção de néctar e concentração de açúcares no néctar de determinada espécie são de extrema importância para uma correta avaliação (Santos, 1956; Horner et al., 2003; Gazzoni, 2017). Portanto, a Figura 2 apresenta a descrição das estruturas florais observadas no presente estudo:



**Figura 2.** Morfologia da flor da soja, (1) pétala, (2) pólen; (3) cálice; (4) óvulo e (5) ovário.

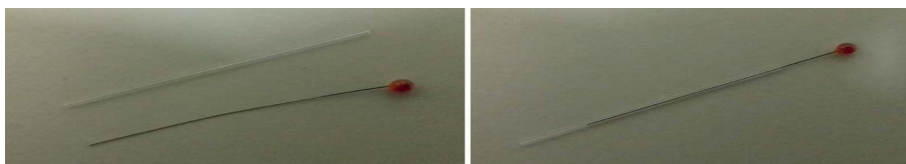
### Ensaios para ejeção do néctar do microcapilar

Microseringa de Erickson (1979): consistiu na inserção do capilar no lúmen de uma microseringa de cromatografia (25  $\mu\text{L}$ ) e adicionar determinado volume conhecido da fase móvel (Figura 3). Verificou-se com este método, que o capilar permanece preso à parede da microseringa. Do qual, sua remoção só é possível após secagem completa em uma corrente de azoto, o qual exige uma determinada estrutura laboratorial específica. Portanto, o uso dessa técnica, demonstrou-se inviável do ponto de vista **técnico para aplicação** a campo, pois exigiria uma infraestrutura laboratorial e pelo menos 10 seringas (Figura 3) para cada amostra composta.



**Figura 3.** Sistema para remoção de néctar por microseringa de cromatografia (Adaptado de Erickson, 1979).

Êmbolo para microcapilar: Foi confeccionado um **êmbolo** especialmente para esta finalidade, no qual consistiu em adentrar o capilar de modo a expulsar o conteúdo interno de néctar (Figura 4). O êmbolo apresentou-se eficiente somente ao microcapilar de 1,0  $\mu\text{L}$ . No entanto, verificou-se que o mesmo no momento da coleta, provocou danos ao nectário da flor da soja devido a sua grande área de contato, sendo esta técnica descartada, uma vez que se buscou a integridade do nectário.



**Figura 4.** Êmbolo confeccionado para a retirada do néctar de dentro do capilar.

Pipetador de sucção de borracha para microcapilar: o aplicador apesar de eficaz, apresentou baixa eficiência na coleta do néctar, pois o processo de retirada do néctar tornou-se muito moroso, aumentando assim o risco de concentração das amostras em função da elevada volatilidade do néctar (Figura 5).



**Figura 5.** Pipetador de sucção de borracha para microcapilar.

### Protótipo adaptado para ejeção de néctar coletado

Finalmente, através das experiências obtidas com os métodos supracitados, foi possível desenvolver um protótipo (Figura 6). A aplicação do mesmo, permitiu o desenvolvimento de uma técnica que se demonstrou viável para a realização de coletas a campo, sem comprometimento do material coletado e de preservação da estrutura floral, o que é extremamente útil, principalmente quando se pretende avaliar a capacidade de reposição do néctar pela planta.



**Figura 6.** Fração da pêra de borracha e microcapilar adaptados à seringa de insulina.

## Conclusão

Através desse estudo foi possível estabelecer uma técnica adequada para a coleta de néctar em flores de soja. No qual não trouxesse danos as estruturas florais em condições de campo, e que para maior agilidade de ejeção um protótipo foi adaptado. O volume médio de néctar produzido por flor foi determinado, bem como a quantidade mínima de flores necessárias para a obtenção de uma unidade amostral, para a realização da determinação e quantificação de açúcares pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência. Portanto, conclui-se aqui uma das etapas necessárias para a possível compreensão da relação inseto-planta, com vistas a colaborar para o incremento da produção agrícola da soja por meio da polinização realizada pelas abelhas.

## Agradecimento

A Bayer Crop Science® pelo financiamento deste projeto.

## Referências

CHIARI, W. C.; TOLEDO, V. A. A.; RUVOLO-TAKAKSUSUKI, M. C. C.; ATTENCIA, V. M.; COSTA, F. M.; KOTAKA, C. S.; SAKAGUTI, E. S.; MAGALHAES, H. R. Floral biology and behavior of Africanized honeybees *Apis mellifera* in soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p.367-378, 2005.

- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos, nono levantamento, jun.2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 19 jun. 2018.
- ERICKSON, E. H. Characterization of floral nectars by high-performance liquid chromatography. **Journal of Apicultural Research**, v. 18, p. 148-152, 1979.
- ERICKSON, E. H.; BERGER, G. A.; SHANNON, J. G.; ROBINS, J. M. Honeybee pollination increases soybean yields in the Mississippi Delta region of Arkansas and Missouri. **Journal of Economic Entomology**, v. 71, p. 601-603, 1978.
- ERICKSON, E. H.; GARMENT, M. B. Soya-bean flowers: nectary ultra-structure, nectar guides, and orientation on the flower by foraging honeybees. **Journal of Apicultural Research**, v.18, p.1-11, 1979.
- FREE, J. B. **Insect pollination of crops**. New York: Academic Press, 1993. 684 p.
- FREITAS, B. M. **The pollination efficiency of foraging bees on apple (*Malus domestica* Borkh) and cashew (*Anacardium occidentale*)**. 1995. 197 f. Tese - University of Wales, Cardiff, UK.
- GALLAI, N.; SALLES, J. M.; SETTELE, J.; VAISSIÈRE, B. E. Economic valuation of the vulnerability of the world agriculture confronted with pollination decline. **Ecological Economy**, v. 68, p. 810-821, 2009.
- GAZZONI, D. L. **Soja e abelhas**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 151 p.
- GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economical Entomology**, v. 108, p. 849-857, 2015.
- HORNER, H. T.; HEALY, R. A.; CERVANTES-MARTINEZ, C.; PALMERT, R. G. Floral nectary fine structure and development in *Glycine max* L. (Fabaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v.164, n. 5 , p. 675-690, 2003.
- KLEIN, A. M.; VAISSIERE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences**, v. 274, p. 303-313, 2007.
- McGREGOR, S. R. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: USDA, 1976. 411 p. (Agriculture Handbook).
- NAVARRO JUNIOR, H. M.; COSTA, J. A. Contribuição relativa dos componentes do rendimento para produção de grãos em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 269-274, 2002.
- SANTOS, C. F. Morfologia dos nectários e concentração dos néctares de algumas plantas apícola. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 12-13, p. 57-67, 1956.
- SHEPPARD, W. S.; JAYCOX, E. R.; PARISE, S. G. Selection and management of honeybees for pollination of soybeans. In: **Proceedings of the 4th International Symposium on Pollination: increasing production of agricultural crops through increased insect pollination**, 1979. 541 p.