



**Universidade Federal do Tocantins
Campus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

PAULO HENRIQUE TSCHOEKE

**ASPECTOS FITOSSANITÁRIOS PARA A PRODUÇÃO
SUSTENTÁVEL DO MELOEIRO NO ESTADO DO TOCANTINS**

**GURUPI – TO
2015**



**Universidade Federal do Tocantins
Campus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

PAULO HENRIQUE TSCHOEKE

**ASPECTOS FITOSSANITÁRIOS PARA A PRODUÇÃO
SUSTENTÁVEL DO MELOEIRO NO ESTADO DO TOCANTINS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos

Co-orientador: Prof. PhD. Eugênio Eduardo de Oliveira

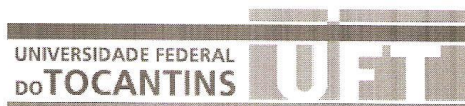
**GURUPI – TO
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Gurupi

- T879a** Tschoeke, Paulo Henrique
Aspectos fitossanitários para a produção sustentável do meloeiro no Estado do Tocantins / Paulo Henrique Tschoeke. - Palmas, 2015.
98f.
- Tese de Doutorado – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, 2015.
Linha de pesquisa: Fitossanidade.
Orientador: Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos.
1. *Cucumis melo*. 2. Clima. 3. Polinização. I. Santos, Gil Rodrigues dos. (orientador) II. Universidade Federal do Tocantins. III. Título.

CDD 632.95

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizada desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.




Universidade Federal do Tocantins
Campus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal


Defesa nº 07


ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE PAULO HENRIQUE TSCHOEKE, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS


Aos sete dias do mês de julho do ano de 2015, às 09:00 horas, na Sala 15 do Bloco BALA II, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Orientador Dr. Gil Rodrigues dos Santos do Campus Universitário de Gurupi/ Universidade Federal do Tocantins, Prof. Co-orientador PhD Eugenio Eduardo de Oliveira do Departamento de Entomologia/Universidade Federal de Viçosa, Prof. PhD Renato de Almeida Sarmiento do Campus Universitário de Gurupi/Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento do Campus Universitário de Gurupi/Universidade Federal do Tocantins sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da TESE DE DOUTORADO de PAULO HENRIQUE TSCHOEKE, intitulada "Aspectos fitossanitários para a produção sustentável do meloeiro no Estado do Tocantins". Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo parecer favorável à aprovação, habilitando-o ao título de Doutor em Produção Vegetal.


Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.


PhD Eugenio Eduardo de Oliveira -
Universidade Federal de Viçosa
Co-orientador e Primeiro examinador


Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento
Universidade Federal do Tocantins
Segundo examinador


PhD Renato de Almeida Sarmiento
Universidade Federal do Tocantins
Terceiro examinador


Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar
Universidade Federal do Tocantins
Quarto examinador


Dr. Gil Rodrigues dos Santos
Universidade Federal do Tocantins
Orientador e presidente da banca examinadora

Gurupi, 07 de julho de 2015.


Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à memória de:

Aderval Carneiro da Silveira,

Estuardo Reyes,

Fernando Ferreira Leão,

Fritz Plaumann,

Fritz Müller,

Marcos Avelino Leite e

Raulino Reitz

“Ninguém ignora tudo, ninguém sabe tudo. Por isso aprendemos sempre.”

Paulo Freire

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo pela Vida;

Aos meus pais Roland e Nair, que me ensinaram que “quem tem vontade, já tem metade”;

À Marcela Cristina e Isabela Maria, minhas eternas companheiras, pelo apoio incondicional e principalmente pela paciência durante estes anos de estudos;

À minha família catarinense e à minha família tocantinense pela compreensão e apoio;

Ao Prof. Gil Rodrigues dos Santos por viabilizar a execução deste trabalho e pelas oportunidades de desenvolvimento profissional proporcionadas;

À equipe do Laboratório de Fitopatologia/UFT pela colaboração ao longo deste estudo;

Ao Prof. Eugênio Eduardo de Oliveira pela confiança depositada e disposição em me orientar e auxiliar, possibilitando a conclusão deste trabalho;

À equipe do Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados, do departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, pela excelente acolhida e pelo comprometimento demonstrado;

Ao Prof. Renato de Almeida Sarmento por intermediar o meu contato com o Prof. Eugênio e por oportunizar a minha ida à UFV;

Ao Prof. Ildon Rodrigues do Nascimento pela estrutura disponibilizada no setor de olericultura/UFT, o que viabilizou os ensaios de campo;

Ao mestrando Mateus Sunti Dalcin, meu “braço direito” no planejamento, implantação e condução dos ensaios;

Aos alunos de graduação e pós-graduação que executaram com seriedade a coleta de dados;

À Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi, por cumprir seu papel social;

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da UFT por contribuírem com minha formação profissional;

Ao professor Lúcio Antônio de Oliveira Campos e ao doutorando Hugo Werneck do Programa de Pós-graduação em Entomologia da UFV por me iniciarem na taxonomia de abelhas brasileiras;

Ao doutorando Ernesto Gonzalo Canarte Bermudez do Programa de Pós-graduação em Entomologia da UFV por me ensinar e auxiliar na taxonomia de Insecta;

À Erika e Welda pela dedicação na secretaria da pós-graduação em Produção Vegetal da UFT;

À Secretaria do Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Inovação do Estado do Tocantins pelo financiamento de parte deste trabalho por meio do PRONEX;

À CAPES pela concessão da bolsa para doutorado sanduíche PROCAD – NF – 2009;

Aos irmãos, cunhadas, sobrinhos e sobrinhas da Aug .. Resp .. e Benemérita Loja Maçônica Amor e Justiça n° 2, Oriente de Gurupi – TO, pelo apoio e carinho fraterno;

E para finalizar estes agradecimentos, se isto é possível, deixo claro que considero que um agradecimento isolado, com citações de nomes, é passível de esquecimentos e injustiças. Por isso agradeço a todos aqueles que conviveram comigo durante estes três anos e que interferiram positivamente para que este trabalho fosse realizado e concluído.

RESUMO GERAL

A introdução de uma cultura agrícola em uma nova região de cultivo requer o conhecimento prévio dos agentes bióticos e abióticos que podem interferir no desempenho da cultura neste novo local. O meloeiro, *Cucumis melo* L., vem expandindo sua área cultivada no cerrado do Tocantins, contudo não há relatos do impacto dos serviços de polinização efetuados pelas abelhas, da influência do controle fitossanitário e da época de cultivo no desempenho produtivo desta olerícola. Portanto, os estudos aqui realizados foram conduzidos com o objetivo de fornecer informações para a implementação do manejo sustentável de meloeiro cultivado no Cerrado com vistas à preservação dos polinizadores e sua interação com o manejo de fitopatógenos. As investigações aqui relatadas são divididas em três capítulos. No primeiro capítulo foi avaliada a diversidade de abelhas, seus comportamentos de forrageio e os períodos de visitação às flores, além de sua contribuição potencial no desempenho de seis cultivares de meloeiro. No segundo capítulo foi verificado se a qualidade da polinização é afetada após a aplicação de quatro tratamentos contendo pesticidas (inseticida, fungicida, mistura inseticida/fungicida e inseticida botânico). Por fim, o terceiro capítulo verificou qual a melhor época (seca, chuvosa ou transição) de cultivo do meloeiro baseada na incidência e severidade do crestamento gomoso (*Didymella bryoniae*), principal doença da cultura. Cinco espécies de abelhas (*Apis mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., *Trigona pallens* e *T. spinipes*) foram identificadas visitando as flores das cultivares estudadas no período da manhã. Todas as espécies de abelhas apresentaram potencial polinizador devido uma correlação moderada entre a intensidade da visitação de abelhas e peso dos frutos. A aplicação de inseticida sintético e botânico afetou negativamente a qualidade da polinização, com a produção de frutos de menor peso e menor número de frutos por planta, respectivamente. Os menores níveis de incidência e severidade do crestamento gomoso foram observados na estação seca. Para que a produção de melão no Cerrado brasileiro seja viável é necessário que as práticas agrícolas favoreçam a presença e manutenção das abelhas nas proximidades das áreas de cultivo e que a integração de táticas de manejo integrado de fitopatógenos sejam implementadas.

Palavras-chave: *Cucumis melo*; polinização; manejo integrado de doenças

ABSTRACT GERAL

Phytopathological issues for sustainable production of muskmelon in the Tocantins State

The introduction of a crop in a new growing region requires prior knowledge of biotic and abiotic agents that can interfere with the performance of the culture in this new location. The muskmelon, *Cucumis melo* L., has been expanding its acreage in Cerrado areas of Tocantins State, however there are no reports of the impact of pollination services performed by bees, the influence of phytopathological control and the growing season in the productive performance of this vegetable crop. This study was conducted in order to provide information for the implementation of sustainable management of melon grown in the Cerrado with a view to the preservation of pollinators and their interaction with the management of plant pathogens. The studies presented here are divided into three chapters. In the first chapter it evaluated the diversity of bees, their behavior and foraging periods of visitation to flowers, as well as their potential contribution in the performance of six cultivars of melon. In the second chapter it was verified that the quality of pollination is affected after application of four treatments containing pesticide (insecticide, fungicide, insecticide mixture / fungicide and botanical insecticide). Finally, the third section was found that the best time (dry, wet or transition) of melon cultivation based on the incidence and severity of gummy stem blight (*Didymella bryoniae*). Five species of bees (*Apis mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., *Trigona pallens* and *T. spinipes*) were identified visiting the flowers of cultivars in the morning. All species of bees showed potential pollinator because a moderate correlation between the intensity of visitation bees and fruit weight. The application of synthetic botanical insecticide and adversely affected the quality of pollination to fruit production of lighter weight and fewer fruits per plant, respectively. The lower levels of incidence and severity of gummy stem blight were observed in the dry season. For the melon production in the Brazilian Cerrado feasible it is necessary that agricultural practices favor the presence and maintenance of bees in the vicinity of crop areas and the integration of integrated pest management tactics are implemented.

Keywords: *Cucumis melo*; pollination; integrated pest management

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2	DIVERSITY AND FLOWER-VISITING RATES OF BEE SPECIES AS POTENTIAL POLLINATORS OF MELON (CUCUMIS MELO L.) IN THE BRAZILIAN CERRADO	15
	ABSTRACT	16
	1. INTRODUCTION.....	17
	2. MATERIAL AND METHODS	18
	2.1 Study site.....	18
	2.2 Cultivation conditions and experimental design	18
	2.3 Floral biology of the six melon cultivars.....	19
	2.4 Diversity of bees and foraging behaviors on melon flowers	20
	2.5 Flower visitation rates of pollinator bees on melon flowers	20
	2.6 Yield traits of the six melon cultivars	20
	2.7 Statistical analyses.....	21
	3. RESULTS.....	21
	3.1 Floral biology of the six melon cultivars.....	21
	3.2 Diversity of bees and foraging behaviors.....	23
	3.3 Flower visitation rates of bee pollinators.....	23
	3.4 Productivity traits of the six melon cultivars	24
	3.5 Correlations between the number of visiting bees, number of flowers, and productivity traits	25
	4. DISCUSSION	25
	ACKNOWLEDGMENTS	27
	REFERENCES	27
	FIGURE CAPTIONS.....	31
3	PESTICIDE-INDUCED EFFECTS ON FLOWER VISITATION RATES OF POLLINATOR BEES AND MELON PRODUCTION AT THE BRAZILIAN CERRADO	45
	ABSTRACT	46
	1. INTRODUCTION.....	47
	2. MATERIAL AND METHODS.....	48
	2.1 Study site.....	48
	2.2 Cultivation conditions and experimental design	48
	2.3 Diversity and flower visitation rates of pollinator bees	49
	2.4 Yield traits under pesticide treatments	50
	2.6 Statistical analysis.....	50
	3. RESULTS.....	51
	3.1 Diversity and flower visitation rates of pollinator bees	51
	3.2 Yield traits under pesticide treatments	52
	3.3 Correlations between the number of visiting bees and productivity traits	52
	4. DISCUSSION	52
	ACKNOWLEDGMENTS	55
	REFERENCES	55
	FIGURE LEGENDS	60
4	FATORES DETERMINANTES DA OCORRÊNCIA DO CRESTAMENTO GOMOSO DO MELOEIRO EM FUNÇÃO DA ÉPOCA DE PLANTIO NO CERRADO	72
	1 INTRODUÇÃO	75
	2 MATERIAL E MÉTODOS	76
	2.1 Ensaios I e II.....	76
	2.2 Ensaio III.....	79
	3 RESULTADOS.....	80
	3.1 Ensaio I – Estação seca.....	80
	3.2 Ensaio II – Estação chuvosa.....	86
	3.3 Ensaio III – Período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa	90
	4 DISCUSSÃO	94

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	101

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Estado do Tocantins é considerado o novo polo agrícola brasileiro. Possui área agricultável de 13.825.070 hectares, o que corresponde a 50,25% da superfície total do Estado. Aliadas a essa disponibilidade de área, pode-se citar a topografia plana, um maior período de insolação, solos férteis, recursos hídricos abundantes e duas estações climáticas definidas (Tocantins 2014). Essas características edafoclimáticas favorecem a atividade pecuária e o cultivo de plantas tropicais, em especial as da fruticultura tropical. Da área potencial, 825.000 ha são explorados com agricultura (Tocantins 2014), dos quais 14.027 ha são ocupados com fruteiras, entre elas a melancia, abacaxi e banana que já estão consolidadas na região e ocupam a maior área plantada (IBGE 2014). Outras, tais como o meloeiro, *Cucumis melo* L., vem recebendo incentivos para implantação e consolidação no estado, pois se desenvolve bem nas mesmas condições edafoclimáticas da melancia. Contudo, esta olerícola é mais exigente em termos nutricionais, manejo de doenças e pragas, polinização, beneficiamento e transporte (Araújo et al. 2008).

Apesar das condições favoráveis à exploração agropecuária, o Tocantins está inserido no Bioma Cerrado, que é considerado um dos 25 *hotspots* de biodiversidade (Myers et al. 2000) e por este motivo, existe a preocupação em se desenvolver tecnologias sustentáveis que preservem os recursos naturais utilizados, tais como o solo, água, flora e fauna, incluindo aí as abelhas, que são essenciais para a polinização das flores e produção de frutos do meloeiro. Tais tecnologias também devem contemplar medidas de manejo que considerem as melhores épocas de cultivo, visando diminuir a incidência de doenças e pragas e conseqüentemente a racionalização das aplicações de pesticidas que podem vir a afetar os serviços de polinização prestados pelos polinizadores. A escassez de pesquisas a esse respeito, bem como o desconhecimento de cultivares de meloeiro adaptadas e a falta de validação local das técnicas de manejo desenvolvidas para outras regiões potencializam as perdas de produtividade por doenças, déficit de polinização, entre outras, o que pode vir a comprometer a viabilidade e expansão dessa atividade.

Por ser uma cultura de cultivo recente no Tocantins, mas com potencial reprimido, é necessária a busca de informações baseadas em pesquisas científicas e que sirvam de referência para o desenvolvimento e implantação de tecnologias

adequadas a realidade local. O objetivo do trabalho foi fornecer informações para implementação do manejo sustentável de meloeiro com vistas à preservação dos polinizadores e sua interação com o manejo de fitopatógenos. Tal estudo foi composto por três ensaios a campo. O primeiro avaliou a diversidade de abelhas, seus comportamentos de forrageio e os períodos de visitação às flores, além de sua contribuição no desempenho produtivo de cultivares de meloeiro. O segundo ensaio verificou se a qualidade da polinização realizada pelas abelhas é afetada após a aplicação de pesticidas sintéticos e botânico nas plantas de meloeiro durante seu florescimento. O terceiro ensaio verificou se a época de cultivo pode ser incorporada como estratégia de controle no manejo integrado do cretamento gomoso no meloeiro cultivado no Tocantins.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J. L. P.; DE ASSIS, J. S.; COSTA, N. D.; PINTO, J. M.; DE CÁSSIA DIAS, R. ; DE JESUS SILVA, C. M. Produção Integrada de Melão no Vale do São Francisco: Manejo e Aspectos Socioeconômicos. **Embrapa Semiárido-Capítulo em livro técnico-científico (ALICE)**, 2008.

IBGE 2014. **Produção agrícola municipal: quantidade produzida, valor da produção, área plantada e área colhida da lavoura temporária**. Disponível em <<http://www.ibge.com.br/sidra>>. Acesso em: 12 jun. 2015.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. ; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v.403, n.6772, p.853-858, 2000.

TOCANTINS 2014. **Fruticultura tocaninense aumentou 63% em quatro anos**. Disponível em <<http://seagro.to.gov.br/noticia/2014/11/24/fruticultura-tocantinense-aumentou-63-em-quatro-anos>>. Acesso em: 15 jun. 2015.

2 DIVERSITY AND FLOWER-VISITING RATES OF BEE SPECIES AS POTENTIAL POLLINATORS OF MELON (CUCUMIS MELO L.) IN THE BRAZILIAN CERRADO

Submitted to: *Scientia Horticulturae*

Paulo Henrique Tschoeke^{a*}, Eugênio E. Oliveira^{b*}, Mateus S. Dalcin^a, Marcela Cristina A. C. Silveira-Tschoeke^a, Gil Rodrigues Santos^a

^a Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, 77410-530, Brasil

^b Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 36570-000, Brasil

Short title: Bees associated with melon fields in the Cerrado biome

Tables: 6

Figures: 6

Pages: 27

Corresponding authors: Eugenio E. Oliveira

Departamento de Entomologia

Universidade Federal de Viçosa

Viçosa, MG 36570-000

Tel. (55)(31) 3899-4027; Fax (55)(31) 3899-4012

Paulo Henrique Tschoeke

Campus Universitário de Gurupi

Universidade Federal do Tocantins

Gurupi, TO 77410-530

Tel. (55) (63) 3311-3577; Fax (55)(63) 3311-3501

Abstract

Although bees are important pollinators in many ecosystems worldwide, studies on bee diversity and their contribution to pollination of commercial plants in the Brazilian Cerrado (savannah-like biome) are scarce. The Cerrado biome covers approximately 23% of Brazil and is one of the world's most important agricultural frontiers. Here, we conducted field experiments in the Brazilian Cerrado to evaluate the diversity of bees, their foraging behaviors and flower visiting periods, and their potential contribution to the performance of six melon (*Cucumis melo* L.) cultivars. Five bee species (*Apis mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., *Trigona pallens*, and *T. spinipes*) were recorded visiting both male and hermaphrodite flower types of all *C. melo* cultivars. Whereas *A. mellifera* showed two peaks of flower visitation (an intense first one between 8:00 a.m. and 11:00 a.m. and a second less intense one after 4:00 p.m.), all other bee species visited the *C. melo* flowers only in the morning, with intensities and visitation peaks similar to those of *A. mellifera*. All of these bees collected nectar and pollen. Our results also indicated a moderate correlation between the intensity of bee visitation and fruit weight, demonstrating that all of these bees had the potential to pollinate *C. melo* and to influence its productivity. Except for the cultivar 'Hibrix', all the other cultivars showed economic feasibility and produced fruits of marketable sizes, with an estimated yield (over 25 tons/ha) in the range registered in other Brazilian regions.

Keywords: wild bees; *Halictus* sp.; *Plebeia* sp.; *Trigona* sp.; melon production

1. Introduction

Despite the fact that the Cerrado biome covers approximately 23% of the Brazilian territory (Diniz-Filho et al., 2009; Ratter et al., 1997), its bee fauna is still poorly known (Andena et al., 2012; Faria and Silveira, 2011), and the potential of these bees to pollinate commercial crops cultivated in this biome has been completely neglected. This research gap is surprising because this ecological region is one of the world's most important agricultural frontiers (Maia et al., 2013; Mittermeier et al., 2004), and the introduction of plants dependent on insect-mediated pollination in commercial fields, such as melon *Cucumis melo* L., has increased rapidly in the last decade (IBGE, 2014).

Honey bees, primarily *Apis mellifera*, have been reported as pollinators of melon fields worldwide (Hoz, 2007; Kill et al., 2011; Kill et al., 2012; Kouonon et al., 2009; Orr and Eisikowitch, 1988; Reyes-Carrillo et al., 2009; Singh et al., 2014; Souza et al., 2012). However, the significant decline of managed honeybee colonies reported for primarily the USA and Europe draws further attention to the risk of depending on a single species to achieve satisfactory pollination of agricultural crops (Potts et al., 2010; Winfree et al., 2007). Furthermore, bees naturally occurring in the vicinity of crop areas can perform equal to or better than the honeybee as pollinators for some crops (Freitas and Paxton, 1998; Maeta and Kitamura, 1981) and contribute significantly to crop production even when honey bees are present (Garibaldi et al., 2013; Rogers et al., 2014; Winfree et al., 2007). However, only a few investigations addressed the potential contribution of unmanaged bees to pollination in commercial fields of melon, and none of the studies was conducted in the ecological environments of the Brazilian Cerrado. The occurrence of *Trigona spinipes* collecting nectar in *C. melo* flowers was recorded in the Brazilian semiarid region (Kill et al., 2011), and *T. carbonaria* were effective pollinators of *C. melo* subsp. *agrestis* in Africa (Kouonon et al., 2009).

In this context, we conducted field experiments in the Brazilian Cerrado to evaluate the diversity of bees, their foraging behaviors, and their visiting periods to flowers of six melon cultivars. Such traits might affect the performance of this horticultural crop by affecting the production and the quality of the fruit. Furthermore, because flower morphology (e.g., flower length, and calyx and corolla width) and phenology are traits that respond to environmental cues (Campbell et al., 2013;

Craufurd and Wheeler, 2009; Cresswell, 2000; Solga et al., 2014; Williams and Thomson, 2001), the findings of this study might also assist in assessing the feasibility of commercial production of melon in the Cerrado regions, as the diverse melon cultivars introduced yearly in the market were initially not developed to be cropped under these climatic (e.g., temperature, photoperiod, and precipitation) and biotic (e.g., pollinator richness and pollination efficiency) conditions.

2. Material and Methods

The two parts of this study were conducted at different times. In the first part, between July and August 2012, we evaluated the diversity of bee species, their foraging behaviors, the time spent collecting resources, and the type of trophic resource collected from male and hermaphrodite flowers of melon cultivars. In the second part of the study, between June and September 2013, we determined the flower visiting rates of bee pollinators to *Cucumis* flowers and the plant phenological traits that might affect bee visitation. We also measured yield traits that might be affected by these insects (e.g., fruit set, number of marketable fruits, average fruit weight, and estimated yield per hectare), all of which are influenced by bee visitation.

2.1 Study site

The study was conducted at the experimental unit of the Universidade Federal do Tocantins (UFT) in Gurupi, Tocantins State, Brazil (latitude 11°43'45"S, longitude 49°04'07"W, and altitude of 280 m). The site is typical of the Brazilian Cerrado region. The climate of the region, according to Köppen is Aw, i.e., tropical hot and humid, with two climate seasons: a dry season, which is from June to September, and a rainy season from October to April (Samani and Hargreaves, 1985).

2.2 Cultivation conditions and experimental design

We adapted the cultivation procedures normally used in the commercial melon fields in other Brazilian regions. The soil was prepared with two heavy diskings and a leveling disk harrow. Double-face (white-black) plastic canvas (150 mm thick) was used to cover the rows, with the white face up. Plants were watered via drip irrigation and a base fertilizer (N-P-K: 5-25-15; Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brazil) of 1000 kg/ha was applied. An application of 60 g of urea (45%

N, Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brazil) and 60 g of potassium chloride (Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brazil) was added to each pit as a topdressing 20 and 40 days after planting. Pesticide applications were applied every 7 days and applied during the late afternoons at the following rates: 2 g/L of Cerconil WP (commercial mixture of thiophanate-methyl [200 g a.i./kg] + chlorothalonil [200 g a.i./kg]; Iharabras Indústrias Químicas S.A, Sorocaba-SP, Brazil); 0.3 mL/L of Score EC (difenoconazole [250 g a.i./L]; Syngenta Proteção de Plantas LTDA, São Paulo-SP, Brazil), 0.3 mL/L of Decis 25EC (deltamethrin [25 g a.i./L]; Bayer Cropscience LTDA, São Paulo-SP, Brazil) and 3 g/L of Evidence 700 WG (imidacloprid [700 g a.i./L]; Bayer Cropscience LTDA, São Paulo-SP, Brazil).

We used a randomized experimental design consisting of six treatments (commercial cultivars of melon normally planted in other Brazilian regions) and four study fields. The distance between the study fields was 5 m in length. Each study field was divided into six plots. These plots consisted of two rows, each containing 10 pits. Two plants were planted per pit. The distance between the rows and pits was 1.5 and 0.5 m, respectively. The plots were 2 m apart. Except for the cultivar 'Hibrix' (Nunhems do Brasil Comércio de Sementes Ltda., Campinas-SP, Brazil), the other cultivars ('Eldorado 300', 'Dourado', 'Louro', 'Canarian', and 'Gaúcho Redondo') were purchased from ISLA Sementes (ISLA Sementes Ltda., Porto Alegre-RS; Brazil). The melon seedlings were grown in disposable cups (with a volume of 0.3 L) containing commercial substrate (Germinar XI, Bioflora Ltda, Prata-MG, Brazil) for vegetables, and the seedlings were transplanted 10 days after sowing.

2.3 Floral biology of the six melon cultivars

The number of flowers per plant, duration of blooming season, and morphological dimensions of both male and hermaphrodite flower types were evaluated for the six cultivars. One main branch and one secondary branch per plant were marked on four plants of each experimental plot to estimate the number of both flower types per plant. These measurements were performed daily until the end of the blooming season. The calyx and corolla diameters and the flower heights (length of corolla tube) for both flower types of the six cultivars were measured. A digital caliper was used for all measurements. To evaluate the duration of the flower cycle,

five hermaphrodite and five male flowers per experimental plot were randomly selected, and the duration of anthesis, the time of anther dehiscence, and stigmatic receptivity of these flowers (*via* chemical tests) were measured. The flowers were marked one day before the evaluation of these parameters. The anther dehiscence period was measured with methodologies previously described (Njoroge et al., 2004). The stigma receptivity of hermaphrodite flowers in all cultivars was determined following the methodology described by Dafni et al. (2005).

2.4 Diversity of bees and foraging behaviors on melon flowers

To distinguish bee pollinators from mere floral visitors, only bee species that were evidently carrying melon pollen and that contacted floral reproductive parts were recorded. Collected bees were killed in a jar with ethyl acetate, pinned, and sent for taxonomic identification (Prof. Favizia Freitas de Oliveira, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil, where voucher specimens were deposited).

2.5 Flower visitation rates of pollinator bees on melon flowers

The bee visitation frequency was recorded on day 7 and day 13 of the flowering season. These observations were always performed in the first 10 min of each anthesis hour, as described in other studies (Courcelles et al., 2013; Inouye and Pyke, 1988; Wolf et al., 1999). Observers were randomly assigned to each experimental block where bee foraging behavior and time spent collecting nectar and pollen were recorded. A total of 20 bee visits of each bee species in each flower type during each anthesis hour were considered for analysis, and these observations were performed on days different from the days when the bee visitation frequency was assessed.

2.6 Yield traits of the six melon cultivars

Because bee frequency was recorded per experimental plot, the following yield parameters were evaluated for the same experimental unit: 1) fruit set, 2) number of marketable fruits, 3) average fruit weight, and 4) estimated yield per hectare. These parameters were correlated with the number of bees that visited the experimental plots.

2.7 Statistical analyses

The dimensions of the flowers and the time spent by the bees for resource collection were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Tukey's HSD test ($P < 0.05$), when needed. The daily number of flowers was subjected to repeated-measures ANOVA for each flower type (hermaphrodite and male flowers) for all the melon cultivars. The number of flowers produced per day was used as the replicate (within sample variation) to avoid problems of pseudoreplication in time (Paine, 1996; von Ende, 1993). The GLM procedure with the PROFILE statement was used for this analysis (SAS Institute, 2008). The repeated-measures ANOVA was also used for the number of each bee species that visited hermaphrodite and male flowers of all the cultivars. In this case, the evaluation days (days 7 and 13 of blooming season) were used as replicated measurement (within sample variation). Additionally, correlations between the number of bees for each species, the number of flowers, bee abundance (sum of the bees that were recorded on days 7 and 13 of blooming season), and fruit set, the number of marketable fruits, and average fruit weight were determined (PROC CORR; SAS Institute, 2008). The assumptions of normality and homogeneity of variance were checked using the UNIVARIATE procedure (SAS Institute, 2008), and no data transformations were necessary.

3. Results

To exemplify the dry season in the region where our study was conducted, the climatic and weather data for 2013 are shown in Figure 1. The monthly average temperature varied from 18°C (minimum temperature) to 33°C (maximum temperature), and the rainfall was mostly concentrated from January to April and October to December, with an annual precipitation of 1561.4 mm (Fig. 1A). The average temperature and relative humidity on days when the visitation frequency was evaluated are presented in Fig. 1B. The morning period, when greater bee visitation rates were observed, had the lowest temperature (from 15°C to 25°C) and the highest average relative humidity (from 60% to 90%).

3.1 Floral biology of the six melon cultivars

Independent of the cultivar examined, the blooming period began 40 days after sowing and lasted for 18 days. The hermaphrodite flowers bloomed two days

after the male flowers. No significant differences were observed in the repeated-measures ANOVA for the daily number of hermaphrodite and male flowers among the cultivars examined (Table 1), although a significant time effect was observed in the daily number of each flower type (Table 1, Fig. 2). The daily number of male flowers was consistently higher than the number of hermaphrodite flowers over the entire blooming season ($P < 0.05$; t -test), and reached a peak on approximately day 7 of blooming and then consistently decreased to zero on day 18 (Fig. 2A). The peak for the quantity of hermaphrodite flowers occurred approximately on day 10 of blooming. The proportion of hermaphrodite:male flowers was 1:6 over the blooming season (Fig. 2B).

Anthesis began at 7:30am for both flower types and flowers remained open until 6:00pm. Flowers lasted one day. Anther dehiscence occurred at the beginning of anthesis, and the pollen was ready, and the stigma was receptive soon after the start of anthesis. The intense morning foraging activity of visiting bees resulted in a pollen shortage by 12:00 p.m.

Four cultivars had morphological differences between their flower types (Fig. 3). The corolla diameters of the hermaphrodite flowers were larger than that of the male flowers (Fig. 3A) for the cultivars ‘Canarian’ ($F_{1,28} = 41.4$, $P < 0.001$), ‘Louro’ ($F_{1,24} = 35.1$, $P < 0.001$), ‘Dourado’ ($F_{1,22} = 37.3$, $P < 0.001$), and ‘Eldorado 300’ ($F_{1,28} = 65.6$, $P < 0.001$). The calyx diameters of the hermaphrodite flowers were larger than those of the male flowers of all the cultivars examined (Fig. 3B; ‘Gaucho Redondo’ [$F_{1,28} = 52.6$, $P < 0.001$]; ‘Canarian’ [$F_{1,28} = 13.3$, $P = 0.0012$]; ‘Louro’ [$F_{1,24} = 13.8$, $P = 0.0011$]; ‘Dourado’ [$F_{1,22} = 96.1$, $P < 0.001$]; ‘Eldorado 300’ [$F_{1,28} = 46.3$, $P < 0.001$]; and ‘Hibrix’ [$F_{1,30} = 32.8$, $P < 0.001$]). Significant differences in the height of the hermaphrodite and male flowers were observed for some cultivars (Fig. 3C). The height of the hermaphrodite flowers was significantly greater than that of the male flowers of the cultivars ‘Canarian’ ($F_{1,28} = 52.3$, $P < 0.001$), ‘Louro’ ($F_{1,24} = 38.7$, $P < 0.001$), and ‘Hibrix’ ($F_{1,22} = 42.2$, $P < 0.001$).

Among the cultivars, only ‘Gaucho Redondo’ demonstrated significant morphological differences (Fig. 3). The hermaphrodite flowers of this cultivar were smaller ($F = 9.05$, $df = 5$, $P < 0.001$) and had narrower corollas ($F = 24.0$, $df = 5$, $P < 0.001$) and narrower calyces ($F = 13.5$, $df = 5$, $P < 0.001$) than those of the other cultivars. Although no significant differences were observed for the corolla diameters (Fig. 3A; $F = 1.86$, $df = 5$, $P = 0.29$) and heights (Fig. 3C; $F = 2.47$, $df = 5$,

$P = 0.18$) of the male flowers among the cultivars, 'Gaucho Redondo' male flowers presented narrower calyces (Fig. 3B; $F = 8.41$, $df = 5$, $P < 0.001$).

3.2 Diversity of bees and foraging behaviors

The honeybee *A. mellifera* L. and at least four wild bee species (*Halictus* sp., *Plebeia* sp., *Trigona spinipes* F., and *T. pallens* F.) were observed on both flower types in all cultivars. These bees presented similar foraging behaviors. They approached the flowers from the front and rested on the petals. To collect nectar from the male flowers, the bees placed their heads between the anthers and petals and toward the nectaries, gathering pollen grains on their bodies (mostly on the head and mesoscutum). Alternatively, to reach the nectaries located at the corolla base, the bees positioned themselves on top of the anthers, which also resulted in the adhesion of a considerable amount of pollen grains on the ventral side of the body and legs. For pollen collection, the bees landed directly on the anthers, which were manipulated by the anterior legs to transfer pollen to the corbicula (or scopa in *Halictus* sp.). Some *A. mellifera* and *T. spinipes* bees also used their anterior legs to dislodge the pollen grains adhered to their body. The grooming behavior was performed either on the same flowers from which the pollen were collected or on nearby melon leaves. The bees behaved similarly in hermaphrodite flowers, where they landed on the petals and moved directly toward the nectaries or landed on the anthers and/or stigmas to reach the nectaries located at the corolla base.

Although all the bee species exhibited similar foraging behavior, significant differences were observed in the time they spent foraging for nectar and pollen (Table 2). Generally, all bee species spent significantly less time ($P < 0.05$, paired *t*-tests) collecting nectar than pollen, but both the *Trigona* spp. used more time than the other bees to collect nectar (Table 2; $F = 91.7$, $df = 4$, $P < 0.001$) and pollen (Table 2; $F = 104.5$, $df = 4$, $P < 0.001$). Bee species collected nectar and pollen in the morning, when approximately 65% of the bees were exclusively collecting pollen. During the afternoon, only *A. mellifera* visited the melon flowers to collect nectar.

3.3 Flower visitation rates of bee pollinators

Repeated-measures ANOVA for the number of each bee species visiting the male flowers found no significant effects of the cultivar, but showed that the visitation

rates varied significantly with the anthesis hour ($P < 0.05$; Table 4). For *Plebeia* sp., *Halictus* sp., and *T. pallens*, significant effects were also observed for the interactions between the cultivars and anthesis hour and between anthesis hour and blooming period (time; $P < 0.05$; Table 4). As shown in Figure 4A, a first peak of visitation was at approximately 10:00 a.m., which was followed by a second less intense peak (only for *A. mellifera*) after 4:00 p.m. Visitation rates to male flowers by *Plebeia* sp. varied by blooming day (Fig. 4BI and 4BII). Despite a small delay in the peak visitation time (from 8:00 a.m. to 9:00 a.m.) for some cultivars (e.g., ‘Louro’ and ‘Canarian’), no significant differences were observed with respect to the peak intensity ($P > 0.05$; *t*-test). *Plebeia* bees did not visit the male flowers after 2:00 p.m. The pattern of visitation of *Halictus* sp. (Fig. 4C) and *T. pallens* (Fig. 4D) demonstrated a peak of visitation that started at approximately 8:00 a.m. (except in the ‘Louro’ male flowers) and peaked between 8:00 a.m. and 10:00 a.m., respectively.

Significant effects were found only for the number of each visiting bee species and the anthesis hour ($P < 0.05$; Table 5) and not for the cultivar and blooming season (time) or their interactions with cultivar and anthesis hours ($P > 0.05$; Table 5). All the bee species visitation peaks occurred during the morning for collection of nectar (for *A. mellifera*, a second and less intense visitation peak after 5:00 p.m. for collecting nectar was observed) (Fig. 5).

3.4 Productivity traits of the six melon cultivars

The cultivars ‘Hibrix’ and ‘Canarian’ produced a lower number of fruits set ($F = 4.98$, $df = 4$, $P = 0.007$; Fig. 6A) and marketable fruits ($F = 4.31$, $df = 4$, $P = 0.009$; Fig. 6A) than the other cultivars. However, the ‘Canarian’ fruits were the heaviest ($F = 5.28$, $df = 4$, $P < 0.001$; Fig. 6B) among the cultivars, which counterbalanced the low number of marketable fruits and resulted in an estimated yield ($F = 2.98$, $df = 4$, $P = 0.041$; Fig. 6C) similar to that of the ‘Gaúcho Redondo’, ‘Louro’, ‘Dourado’, and ‘Eldorado 300’ cultivars. The fruit weights of the cultivars ‘Hibrix’, ‘Eldorado 300’, and ‘Dourado’ were the lowest among the cultivars. As a result, the cultivar ‘Hibrix’ had an estimated yield of 16.2 ton/ha, which was the lowest among all the cultivars.

3.5 Correlations between the number of visiting bees, number of flowers, and productivity traits

Correlation analysis was performed between the number of bees from each species visiting the melon flowers and the number of flowers that bloomed in the peak blooming season (day 7) and between the abundance of bees and the productivity traits of the melons (number of fruits set, number of marketable fruits, and average fruit weight). Only the number of *T. pallens* was significantly correlated to the number of male flowers ($r = 0.67$, $P = 0.003$; Table 6) and the number of both flower types ($r = 0.53$, $P = 0.009$; Table 6). However, significant correlations were observed between the fruit weight and abundance of *A. mellifera* ($r = 0.58$, $P = 0.007$; Table 6) and total bee abundance ($r = 0.53$, $P = 0.042$; Table 6).

4. Discussion

Empirical studies have shown that wild bees occurring near crop areas are important pollinators (Brittain et al., 2013; Garibaldi et al., 2013; Rader et al., 2012; Rogers et al., 2014; Slaa et al., 2006; Stanley et al., 2013). In the present study, we demonstrated that the bees *A. mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., *T. spinipes*, and *T. pallens* were effective pollinators of *Cucumis* spp. in the Brazilian Cerrado. Additionally, the bee visitation intensity correlated significantly with the weight of melon fruits, which indicated the potential of these bees to provide pollination of melons grown in the Cerrado.

Previous reports have demonstrated that the pollination effectiveness of bees was affected by daily visitation pattern of these floral visitors (Azo'o Ela et al., 2010; Souza et al., 2012; Young et al., 2007). We observed that bee visitation rates were influenced by the time of day; a visitation peak was reached between 8:00 and 9:00 a.m., which declined to zero by approximately 12:00 p.m. The reduction in bee visitation rates during the afternoon could be explained by the depletion of floral resources (Biesmeijer et al., 1999; Hofstede and Sommeijer, 2006; Polatto et al., 2014) and/or adverse abiotic factors (Antonini et al., 2005; Polatto et al. 2014). Considering that pollen availability coincided with the beginning of anthesis (approximately 7:30 a.m.), and that pollen was highly sought by the bees, it was highly possible that the quantity of pollen became scarce throughout the day. Concurrently, we found not only high temperatures but also large reductions in the

relativity humidity during the afternoons (Fig. 1B), which could also contribute to the reduction of bee visitations.

Flower morphological traits are important for pollinator attraction (Kill et al., 2012; Williams and Thomson, 2001). It is often assumed that flower size correlates with an increase in pollinator visitation (Krizek and Anderson, 2013) because large flowers generally contain more nectar rewards and offer a larger landing platform (Blarer et al., 2002; Kill et al., 2012; Krizek and Anderson, 2013). However, our results did not confirm these predictions. Although we observed that the hermaphrodite flowers of the 'Canarian' and 'Louro' cultivars had larger dimensions than their male flowers, the size did not affect the bee visitation patterns on flowers by sex type. A comparison of flower size among the cultivars showed that the hermaphrodite flowers of the 'Gaucho Redondo' cultivar had the smallest dimensions, which again did not impact the bee visitation patterns on these flowers.

Our results showed that all the melon cultivars had a similar flower phenology, with the development of male flowers beginning before hermaphrodite flowers. Such temporal variation in floral development is common in Curcubitaceae (Kill et al., 2011; Orr and Eisikowitch, 1988), which in some cases allows the forager bees to discover these food sources and to recruit a larger amount of bees prior to the hermaphrodite flower blooming (Kouonon et al., 2009). Such a phenomenon results in less energy expenditure in the plants, as the melon plants normally invest less energy to produce male flowers (Orr and Eisikowitch, 1988). Our results for the period of flower opening differed from those described in other Brazilian regions. Whereas we observed that the melon flowers began to open at approximately 7:30 a.m. (when the temperature was approximately 19°C), investigations in the Brazilian semiarid region found that flower opening began before sunrise (Abreu et al., 2008; Kill et al., 2011; Kill et al., 2012). The later flower opening observed in the present study may be due to climatic differences.

Previous studies have shown that plants alter their growth and phenology under different agricultural contexts (Campbell et al., 2013; Craufurd and Wheeler, 2009; Cresswell, 2000; Solga et al., 2014; Williams and Thomson, 2001), which can present a serious problem during the introduction of an agricultural crop to a novel region. In the present study, although the melon cultivars were not initially developed for cultivation in the Cerrado regions, all the melon cultivars (except the 'Hibrix' cultivar) showed feasibility for production under Cerrado conditions. The cultivars

produced fruit of marketable size, and their estimated yields were over 25 tons/ha, which were in the range registered in other Brazilian regions (Aragão et al., 2013; Nunes et al., 2006).

These results show that *Apis mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., *T. spinipes*, and *T. pallens* may act as potential pollinators of melon in the Cerrado region. Further studies that investigate the pollination contribution and efficiency of each of these bee species will help to optimize melon production in the Cerrado region. Furthermore, considering that factors such surrounding landscape and farm management practices can contribute to pollinator diversity and resultant yield as well as that our findings resulted of a single area; more investigations need to be done in other areas and over time to determine if our results carry over to actual farms throughout the region.

Acknowledgments

We thank Dr. Khalid Haddi for a critical review of the manuscript. Grants from the Secretaria do Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Inovação do Estado do Tocantins, the CAPES Foundation, the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq), the Minas Gerais State Foundation for Research Aid (FAPEMIG), and the Arthur Bernardes Foundation (FUNARBE) supported this work.

References

- Abreu, T.B., Nunes, G.H.S., Dantas, M.S.M., Costa-Filho, J.H., Costa, G.G., 2008. Fenologia floral, viabilidade do grão de pólen e receptividade do estigma do meloeiro. Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 52, 43-46.
- Andena, S.R., Santos, E.F., Noll, F.B., 2012. Taxonomic diversity, niche width and similarity in the use of plant resources by bees (Hymenoptera: Anthophila) in a Cerrado area. J. Nat. Hist. 46, 1663-1687.
- Antonini, Y., Souza, H.G., Jacobi, C.M., Mury, F.B., 2005. Diversidade e comportamento dos insetos visitantes florais de *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae), em uma área de campo ferruginoso, Ouro Preto, MG. Neotrop Entomol 34, 555-564.
- Aragão, F.A.S., Torres Filho, J., Nunes, G.H.S., Queiroz, M.A., Bordallo, P.N., Buso, G.S.C., Ferreira, M.A., Costa, Z.P., Ferreira Neto, F., 2013. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. Gen. Mol. Res. 12, 6356-6371

- Azo'o Ela, M., Messi, J., Tchuenguem Fohouo, F.-N., Tamesse, J.L., Kekeunou, S., Pando, J.B., 2010. Foraging behaviour of *Apis mellifera adansonii* and its impact on pollination, fruit and seed yields of *Citrullus lanatus* at Nkolbisson (Yaoundé, Cameroon). *Cam. J. Exp. Biol.* 6, 41-48.
- Biesmeijer, J., Born, M., Lukács, S., Sommeijer, M., 1999. The response of the stingless bee *Melipona beecheii* to experimental pollen stress, worker loss and different levels of information input. *J Apic Res* 38, 33–41.
- Blarer, A., Keasar, T., Shmida, A., 2002. Possible mechanisms for the formation of flower size preferences by foraging bumblebees. *Ethology* 108, 341-351.
- Brittain, C., Williams, N., Kremen, C., Klein, A.-M., 2013. Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proc R Soc B Biol Sci* 280.
- Campbell, L.G., LUO, J., MERCER, K.L., 2013. Effect of water availability and genetic diversity on flowering phenology, synchrony and reproductive investment in summer squash. *J. Agric. Sci.* 151, 775-786.
- Courcelles, D.M.M., Button, L., Elle, E., 2013. Bee visit rates vary with floral morphology among highbush blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. App. Entomol.* 137, 693-701.
- Craufurd, P.Q., Wheeler, T.R., 2009. Climate change and the flowering time of annual crops. *J. Exp. Bot.* 60, 2529-2539.
- Cresswell, J.E., 2000. Manipulation of female architecture in flowers reveals a narrow optimum for pollen deposition. *Ecology* 81, 3244-3249.
- Dafni, A., Kevan, P.G., Husband, B.C., 2005. Practical pollination biology. Environquest LTD, 590p.
- Diniz-Filho, J.A.F., Bini, L.M., Loyola, R.D., Nabout, J.C., Rangel, T.F., 2009. Conservation biogeography and climate change in the Brazilian *Cerrado*. *Nat. Cons.* 7, 100-112.
- Faria, L.R.R., Silveira, F.A., 2011. The orchid bee fauna (Hymenoptera, Apidae) of a core area of the *Cerrado*, Brazil: the role of riparian forests as corridors for forest-associated bees. *Biota Neotrop* 11, 87-94.
- Freitas, B.M., Paxton, R.J., 1998. A comparison of two pollinators: the introduced honey bee *Apis mellifera* and an indigenous bee *Centris tarsata* on cashew *Anacardium occidentale* in its native range of NE Brazil. *J. App. Ecol.* 35, 109-121.
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M.A., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Kremen, C., Carvalheiro, L.G., Harder, L.D., Afik, O., Bartomeus, I., Benjamin, F., Boreux, V., Cariveau, D., Chacoff, N.P., Dudenhöffer, J.H., Freitas, B.M., Ghazoul, J., Greenleaf, S., Hipólito, J., Holzschuh, A., Howlett, B., Isaacs, R., Javorek, S.K., Kennedy, C.M., Krewenka, K.M., Krishnan, S., Mandelik, Y., Mayfield, M.M., Motzke, I., Munyuli, T., Nault, B.A., Otieno, M., Petersen, J., Pisanty, G., Potts, S.G., Rader, R., Ricketts, T.H., Rundlöf, M., Seymour, C.L., Schüepp, C., Szentgyörgyi, H., Taki, H., Tscharrntke, T., Vergara, C.H., Viana, B.F., Wanger, T.C., Westphal, C., Williams, N., Klein, A.M., 2013.

- Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* 339, 1608-1611.
- Hofstede, F.E., Sommeijer, M.J., 2006. Influence of environmental and colony factors on the initial commodity choice of foragers of the stingless bee *Plebeia tobagoensis* (Hymenoptera, Meliponini). *Insect. Soc.* 53, 258-264.
- Hoz, J.C.T., 2007. Visita de abejas (*Apis mellifera*, Hymenoptera: Apoidea) a flores de melón *Cucumis melo* (Cucurvitaceae) en Panamá. *Rev. Biol. Trop* 55, 677-680.
- IBGE, 2014. Informações sobre culturas permanentes: Área destinada à colheita e colhida, quantidade e valor da produção. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=p&o=27> accessed on July 26th 2014.
- Inouye, D.W., Pyke, G.H., 1988. Pollination biology in the Snowy Mountains of Australia: Comparisons with montane Colorado, USA. *Austral. J. Ecol.* 13, 191-205.
- Kill, L.H.P., Coelho, M.S., Siqueira, K.M.K., Costa, N.D., 2011. Avaliação do padrão de visitação de *Apis mellifera* em três cultivares de meloeiro, em Petrolina-PE, Brasil. *Rev. Bras. Frutic.* volume especial, 455-460.
- Kill, L.H.P., Coelho, M.S., Siqueira, K.M.K., Ribeiro, M.F., Costa, N.D., Fernandes, N.S., Silva, T.M., 2012. Relationship of floral morphology and biology of yellow melon hybrids with the attractiveness of pollinators. *Magistra* volume especial, 143-149.
- Kouonon, L.C., Jacquemart, A.-L., Zoro Bi, A.I., Bertin, P., Baudoin, J.-P., Dje, Y., 2009. Reproductive biology of the andromonoecious *Cucumis melo* subsp. *agrestis* (Cucurbitaceae). *Ann. Bot.*
- Krizek, B.A., Anderson, J.T., 2013. Control of flower size. *J. Exp. Bot.*
- Maeta, Y., Kitamura, T., 1981. Pollinating efficiency by *Osmia cornifrons* (Radoszkowski) in relation to required number of nesting bees for economic fruit production. *Honeybee Science* 2, 65-72 (*in Japanese*)
- Maia, S.M.F., Carvalho, J.L.N., Cerri, C.E.P., Lal, R., Bernoux, M., Galdos, M.V., Cerri, C.C., 2013. Contrasting approaches for estimating soil carbon changes in *Amazon* and *Cerrado* biomes. *Soil and Tillage Research* 133, 75-84.
- Mittermeier, R.A., Robles-Gil, P., Hoffmann, M., Pilgrim, J.D., Brooks, T.B., Mittermeier, C.G., Lamoreux, J.L., Fonseca, G.A.B., 2004. Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. . CEMEX, Mexico City. Mexico.
- Njoroge, G.N., Gemmill, B., Bussmann, R., Newton, L.E., Ngumi, V.W., 2004. Pollination ecology of *Citrullus lanatus* at Yatta, Kenya. *Int. J. Trop. Ins. Sci.* 24, 73-77.

- Nunes, G.H.S., Madeiros, A.E.S., Granjeiro, L.C., Santos, G.M., Sales Junior, R., 2006. Estabilidade fenotípica de híbridos de melão amarelo avaliados no Pólo Agrícola Mossoró-Assu. *Pesq. agropec. bras* 41, 1369-1376.
- Orr, N., Eisikowitch, D., 1988. Interaction between melon (*Cucumis melo*) flowers and honey bees under extreme desert conditions in Israel. *Apidologie* 19, 85-96.
- Paine, M.D., 1996. Repeated measures designs. *Env. Toxicol. Chem.* 15, 1439-1441.
- Polatto, L., Chaud-Netto, J., Alves-Junior, V., 2014. Influence of abiotic factors and floral resource availability on daily foraging activity of bees. *J. Ins. Beh.*, 1-20.
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W.E., 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* 25, 345-353.
- Rader, R., Howlett, B.G., Cunningham, S.A., Westcott, D.A., Edwards, W., 2012. Spatial and temporal variation in pollinator effectiveness: do unmanaged insects provide consistent pollination services to mass flowering crops? *J. App. Ecol.* 49, 126-134.
- Ratter, J.A., Ribeiro, J.F., Bridgewater, S., 1997. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. *Ann. Bot.* 80, 223-230.
- Reyes-Carrillo, j.l., Cano-Ríos, P., Nava-Camberos, U., 2009. Período óptimo de polinización del melón con abejas melíferas (*Apis mellifera* L.). *Agric. Téc. Méx.* 35, 370-377.
- Rogers, S.R., Tarpy, D.R., Burrack, H.J., 2014. Bee species diversity enhances productivity and stability in a perennial crop. *Plos One* 9, Article e97307.
- Samani, Z.A., Hargreaves, G.H., 1985. A crop water evaluation manual for Brazil. Utah State University, Logan, 87pp.
- SAS Institute, 2008. SAS/STAT User's Guide., Cary, NC, USA.
- Singh, J., Yadav, S., Chhuneja, P.K., 2014. Foraging behaviour and role of *Apis mellifera* Linnaeus in pollination of *Cucumis melo* L. *J. Exp. Zool. India.* 17, 213-217.
- Slaa, E.J., Sánchez-Chaves, L.A., Malagodi-Braga, K.S., Hofstede, F.E., 2006. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie* 37, 293-305.
- Solga, M.J., Harmon, J.P., Ganguli, A.C., 2014. Timing is everything: An overview of phenological changes to plants and their pollinators. *Nat. Areas J.* 34, 227-234.
- Souza, R.M., Aguiar, O.S., Freitas, B.M., Maracajá, P.B., Andrade, C.B.C.M., 2012. Grazing behavior of africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) in flowers of yellow melon (*Cucumis melo* L.). *Rev. Verde Agroecol. Des. Sust.* 7, 233-238.
- Stanley, D., Gunning, D., Stout, J., 2013. Pollinators and pollination of oilseed rape crops (*Brassica napus* L.) in Ireland: ecological and economic incentives for pollinator conservation. *J. Ins. Cons.* 17, 1181-1189.

- von Ende, C.N., 1993. Repeated-measures analysis: growth and other time-dependent measures, In: Scheiner, S., Gurevitch, J. (Eds.), Design and Analysis of Ecological Experiments. Chapman & Hall, New York, pp. 113-137.
- Williams, N.M., Thomson, J.D., 2001. Pollinator quality in native bees and honey bees: comparing pollen removal and deposition on *Phacelia tanacetifolia*., In: Strickler, K., Cane, J.H. (Eds.), For non-native crops, Whence the pollinators of the future?, Entomological Society of America, Lanham, Maryland, USA., pp. 163-179.
- Winfree, R., Williams, N.M., Dushoff, J., Kremen, C., 2007. Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. *Ecol. Lett.* 10, 1105-1113.
- Wolf, S., Lensky, Y., Paldi, N., 1999. Genetic variability in flower attractiveness to honeybees (*Apis mellifera* L.) within the genus *Citrullus*. *HortScience* 34, 860-863.
- Young, H.J., Dunning, D.W., Hassel, K.W.v., 2007. Foraging behavior affects pollen removal and deposition in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). *Am. J. Bot.* 94, 1267-1271.

Figure Captions

Fig. 1. Climatic data obtained at the Experimental Unit of the Universidade Federal do Tocantins in Gurupi, Tocantins State, Brazil. **(A)** The monthly minimum, maximum, and average temperatures for 2013. **(B)** The average temperature and relative humidity on the days (days 7 and 13 of blooming season) when the visitation rates of bees were evaluated.

Fig. 2. Daily **(A)** and cumulative **(B)** number of male and hermaphrodite flowers per plant of melon planted in the Cerrado region. The symbols represent the mean of four replicates, and the vertical bars represent the SD.

Fig. 3. Morphological characteristics of the male and hermaphrodite flowers of six melon cultivars planted in the Cerrado region. Each bar is the result of 14 replicates for the corolla **(A)** and the calyx **(B)** diameters, and the flower length **(C)**. An asterisk on the bar indicates a significant difference between male and hermaphrodite flowers (paired t-test, $P < 0.05$), whereas bars with the same letter indicate no significant differences among the *C. melo* cultivars by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

Fig. 4. Visitation rates of naturally occurring bees on the male flowers of the six melon cultivars and during the blooming periods. **(A)** Number of visits by *A. mellifera*

and *T. spinipes* indicate no significant effects of the cultivar and blooming period, but their visitation rates are significantly affected by the anthesis hour ($P < 0.05$; Table 4). (**BI, BII**) The average number of visits by *Plebeia* sp. is significantly affected by anthesis hour and its interaction with melon cultivars ($P < 0.05$; Table 4). The blooming period (time) and its interaction with the anthesis hour also affect the *Plebeia* sp. visitation rate. (**C,D**) The average number of visits by *Halictus* sp. (**C**) and *T. spinipes* (**D**) is significantly affected only by anthesis hour and its interaction with melon cultivars ($P < 0.05$; Table 4).

Fig. 5. Visitation rates of naturally occurring bees on hermaphrodite flowers of the six melon cultivars planted in the Cerrado region. The number of each visiting bee species is significantly affected only by the anthesis hour ($P < 0.05$; Table 5) and not by the cultivar and blooming season (time) and their interactions with cultivar and anthesis hours ($P > 0.05$; Table 5).

Fig. 6. Evaluation of the number of sets and marketable fruits per plant (**A**), average fruit weight (**B**), and production (**C**) of the six melon cultivars planted in the Cerrado region. Each bar in **A** and **C** represents the result of four replicates, whereas bars in **B** correspond to the results of 22 replicates. Bars with the same letter (in panel **A**, the capital letter denotes fruits set, and lower case letters signify marketable fruits) indicate that there are no significant differences among the *C. melo* cultivars by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

Table 1. Repeated measures analyses of variance for the daily number of male and hermaphrodite flowers/plant in six *C. melo* cultivars.

Sources of variation		Male flowers			Hermaphrodite flowers		
	Df	F	<i>P</i>		F	<i>P</i>	
Between samples							
Cultivar (C)	5	1.54	0.229		0.48	0.78	
Error	18	-	-		-	-	
	df _{den} /df _{num}	Wilks' lambda	F _{approx}	<i>P</i>	Wilks' lambda	F _{approx}	<i>P</i>
Within samples							
Time (T)	4/15	0.0283	13.71	0.023*	0.0281	35.88	< 0.001*
T x C	23/75	0.0014	0.94	0.61	1.37	0.69	0.88

* Significant at $P < 0.05$.

Table 2. Time spent collecting trophic resources (pollen and nectar) by each bee species on melon flowers grown in the Cerrado region.

Species	Time (s)	
	Pollen	Nectar
<i>Apis mellifera</i>	11.1±0.64Ca	4.9±0.30 Bb
<i>Plebeia</i> sp.	17.9±0.54Ca	7.9±0.14 Bb
<i>Halictus</i> sp.	16.6±1.05Ca	5.8±0.18 Bb
<i>Trigona spinipes</i>	23.1±1.19Ba	14.1±0.58 Ab
<i>Trigona pallens</i>	32.6±1.85Aa	16.4±0.56 Ab

Each value represents a mean of 20 replicates. Values followed by the same capital letter in the column and the same small letter in the row did not differ statistically by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

Table 3. Percentage (%) of bees collecting nectar or pollen in each type of melon flower during the anthesis period.

Hour	<i>A. mellifera</i>		<i>Plebeia</i> sp.				<i>Halictus</i> sp.				<i>T. spinipes</i>				<i>T. pallens</i>							
	MF		HF		MF		HF		MF		HF		MF		HF		MF		HF			
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P		
7:00 a.m.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8:00 a.m.	10	90	20	80	20	80	20	80	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
9:00 a.m.	20	80	30	70	30	70	40	60	30	70	40	60	20	80	40	60	20	80	40	60	40	60
10:00 a.m.	30	70	40	60	30	70	40	60	30	70	30	70	30	70	30	70	30	70	30	70	30	70
11:00 a.m.	40	60	60	40	40	60	50	50	30	70	50	50	40	60	40	60	40	60	40	60	40	60
12:00 p.m.	40	60	60	40	50	50	60	40	60	60	70	30	60	60	50	50	40	60	50	50	40	60
1:00 p.m.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2:00 p.m.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3:00 p.m.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4:00 p.m.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5:00 p.m.	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6:00 p.m.	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

MF = Male flowers; HF = Hermaphrodite flowers; N = Nectar; P = Pollen.

Values are expressed in percentage of 20 bee visits recorded for each flower type and hour.

Table 4. Repeated measures analyses of variance for the total number of bees in male flowers of six *C. melo* cultivars.

Sources of variation	df	<i>A. mellifera</i>		<i>Plebeia</i> sp.		<i>Halictus</i> sp.		<i>T. spinipes</i>		<i>T. pallens</i>						
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P					
Between samples																
Hour (H)	11	17.93	<0.001*	64.90	<0.001*	44.55	<0.001*	43.82	<0.001*	39.23	<0.001*					
Cultivar (C)	5	1.53	0.18	2.24	0.052	1.30	0.25	0.64	0.67	2.12	0.06					
H x C	55	0.55	0.99	2.13	0.013*	2.30	<0.001*	0.82	0.80	3.66	<0.001*					
Error	216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
	df _{den} /df _{nu}	Wilks' Lambda		Wilks' Lambda		Wilks' Lambda		Wilks' Lambda		Wilks' Lambda						
	m	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P					
Within samples																
Time (T)	216/1	0.997	0.59	0.44	0.975	5.61	0.018*	0.999	0.15	0.69	0.991	1.89	0.17	0.999	0.18	0.67
T x H	216/11	0.939	1.27	0.24	0.852	3.41	0.001*	0.974	1.52	0.89	0.932	1.44	0.16	0.993	0.13	0.69
T x C	216/5	0.987	0.54	0.74	0.977	1.03	0.40	0.966	1.51	0.19	0.966	1.52	0.19	0.982	0.79	0.56
T x H x C	216/55	0.758	1.25	0.13	0.786	1.07	0.36	0.771	1.16	0.23	0.737	1.12	0.06	0.765	1.21	0.17

* Significant at P < 0.05

Table 5. Repeated measures analyses of variance for the total number of bees in hermaphrodite flowers of six *C. melo* cultivars.

Sources of variation	df	<i>A. mellifera</i>		<i>Plebeia</i> sp.		<i>Halictus</i> sp.		<i>T. spinipes</i>		<i>T. pallens</i>						
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P					
Between samples																
Hour (H)	11	9.61	<0.001*	19.45	<0.001*	9.69	<0.001*	27.07	<0.001*	10.49	<0.001*					
Cultivar (C)	5	0.93	0.45	0.50	0.77	1.10	0.36	0.56	0.73	0.24	0.94					
H x C	55	1.23	0.16	0.73	0.91	1.07	0.35	1.10	0.31	1.15	0.24					
Error	216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
	df _{den} /df _{nu}	Wilks' Lambda		Wilks' lambda		Wilks' lambda		Wilks' lambda		Wilks' lambda						
	m	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P					
Within samples																
Time (T)	216 /1	0.992	1.65	0.20	0.987	2.73	0.09	0.999	1.87	0.14	0.989	2.34	0.12	0.994	1.38	0.24
T x H	216 /11	0.915	1.83	0.06	0.979	0.43	0.94	0.974	1.71	0.07	0.934	1.33	0.21	0.945	1.15	0.33
T x C	216 /5	0.961	1.77	0.12	0.984	0.72	0.60	0.966	1.12	0.11	0.981	0.89	0.51	0.983	0.74	0.59
T x H x C	216 /55	0.819	0.87	0.72	0.755	1.28	0.11	0.771	0.62	0.76	0.821	0.86	0.75	0.799	0.99	0.50

* Significant at P < 0.05.

Table 6. Correlations between the number of bees, the number of flowers and productivity traits of *C. melo* cultivated in the Cerrado region.

Bees	Number of flowers on the 7 th flowering day						Productivity traits					
	Male		Hermaphrodite		Total of flowers		Number of set fruits		Number of marketable fruits		Fruit weight	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
<i>A. mellifera</i>	0.23	0.27	-0.40	0.06	0.15	0.48	-0.28	0.18	-0.19	0.36	0.58	0.007*
<i>Plebeia</i> sp.	0.20	0.36	-0.18	0.40	0.16	0.45	-0.10	0.62	-0.09	0.65	0.41	0.06
<i>Halictus</i> sp.	0.04	0.89	-0.02	0.41	0.03	0.90	-0.05	0.81	-0.02	0.86	0.18	0.41
<i>T. spinipes</i>	0.08	0.70	0.01	0.98	0.08	0.70	0.04	0.86	0.04	0.86	0.24	0.28
<i>T. pallens</i>	0.67	0.003*	-0.23	0.28	0.53	0.009*	0.14	0.50	0.11	0.60	0.11	0.60
Total of bees	0.30	0.15	-0.26	0.22	0.25	0.24	-0.13	0.54	-0.08	0.54	0.53	0.042*

* Significant at $P < 0.05$.

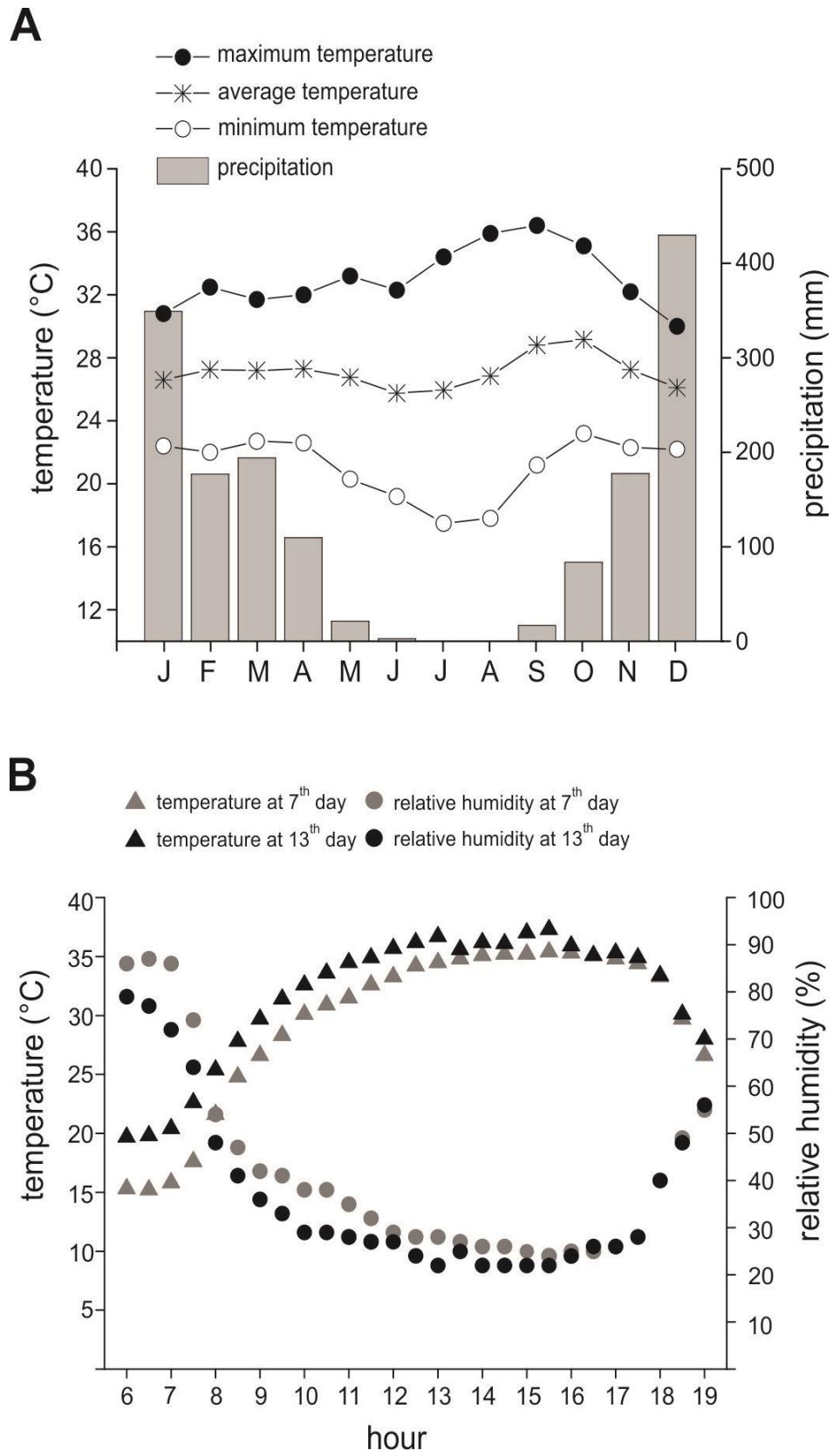


Figure 1

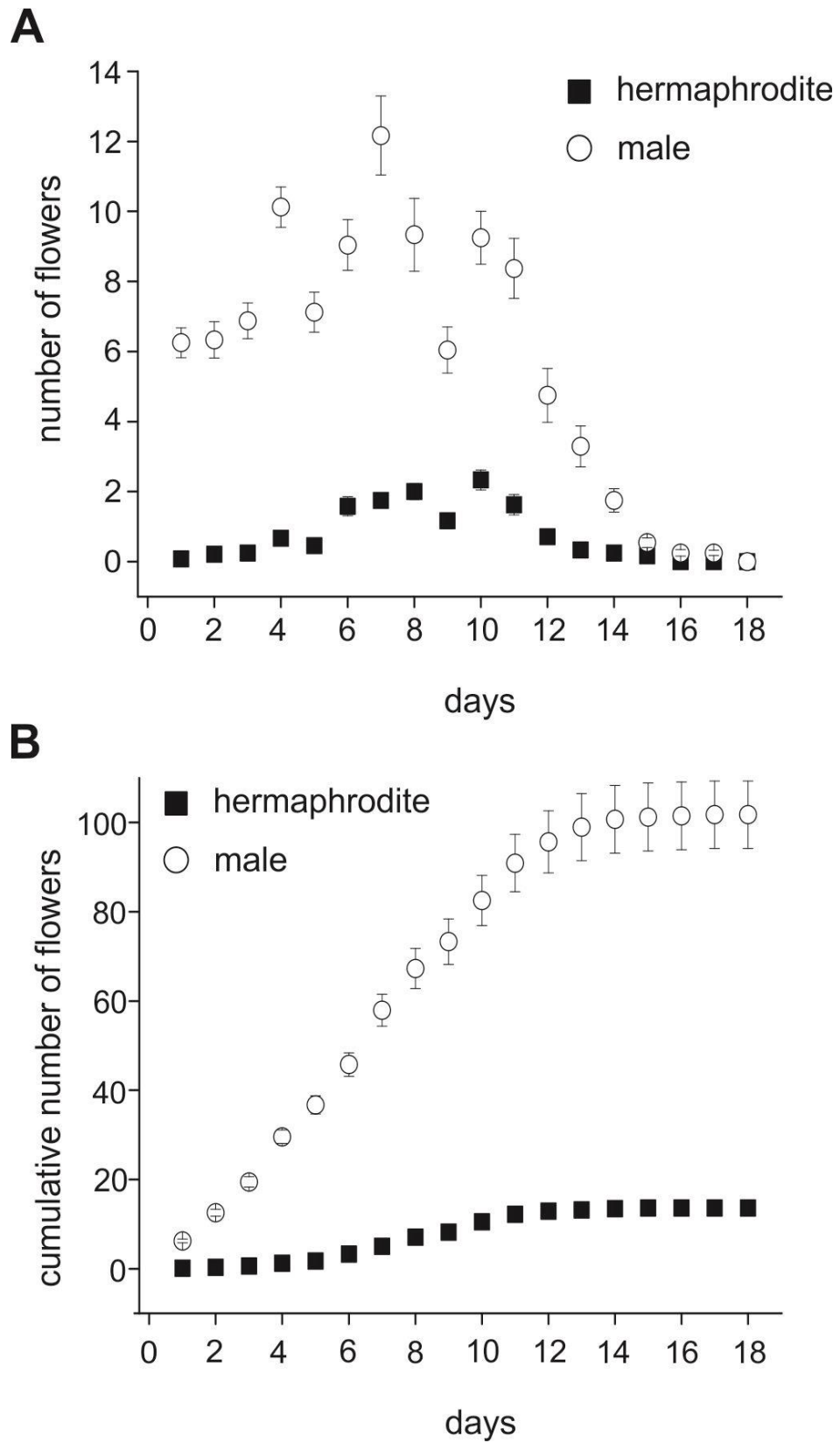


Figure 2

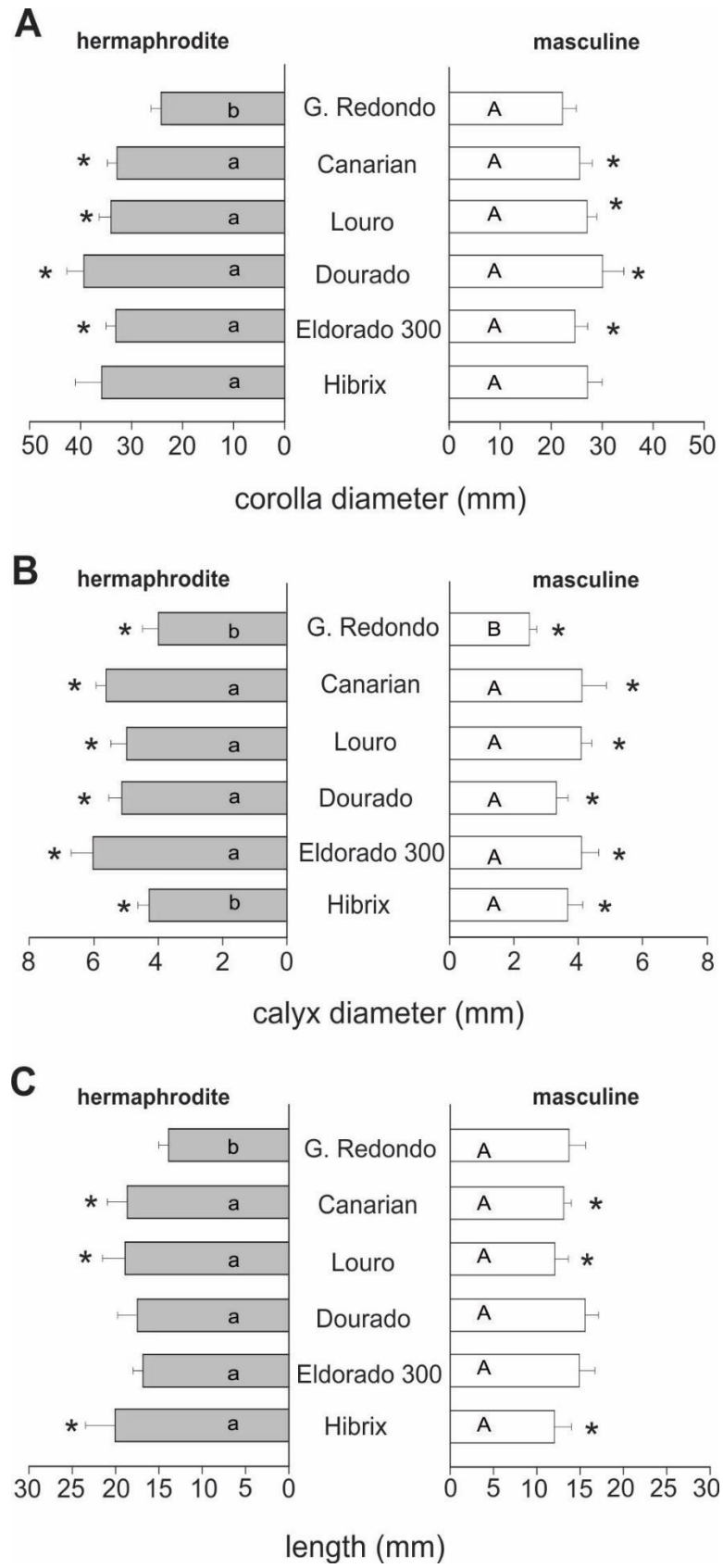


Figure 3

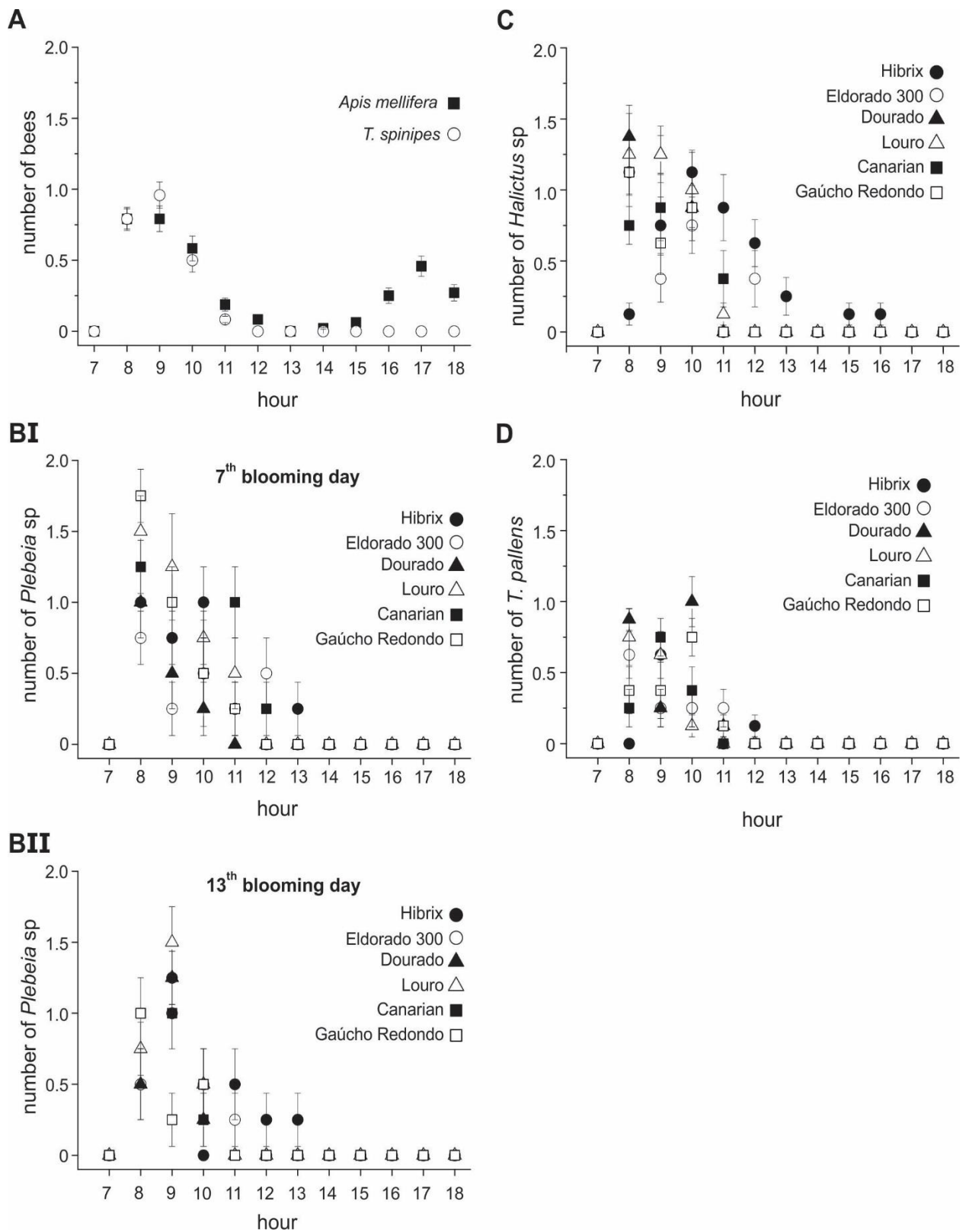


Figure 4

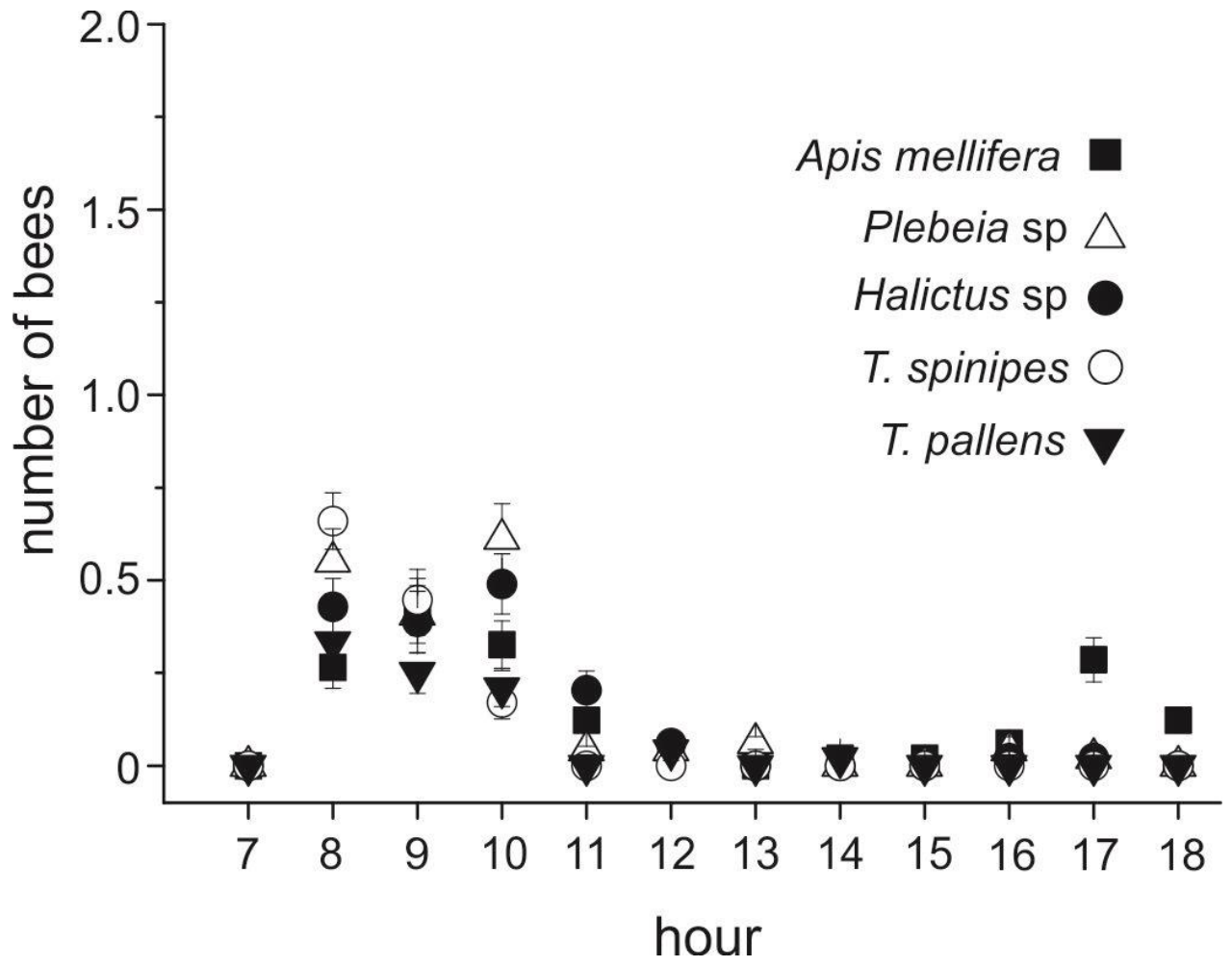


Figure 5

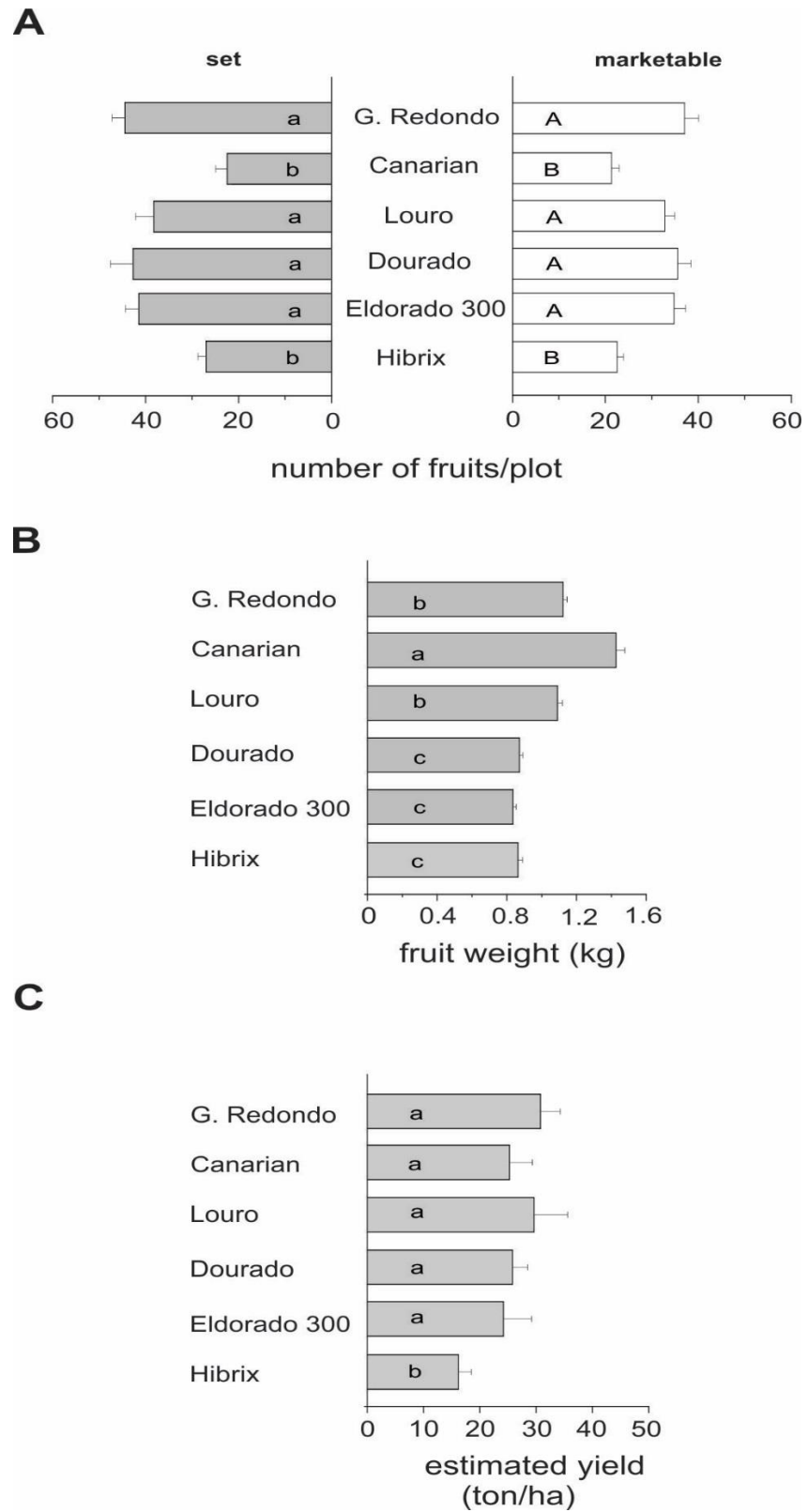


Figure 6

3 PESTICIDE-INDUCED EFFECTS ON FLOWER VISITATION RATES OF POLLINATOR BEES AND MELON PRODUCTION AT THE BRAZILIAN CERRADO

Submitted to: *Environmental Chemistry and Toxicology*

Paulo Henrique Tschoeke^{a*}, Eugênio E. Oliveira^{b*}, Mateus S. Dalcin^a, Marcela Cristina A. C. Silveira-Tschoeke^a, Renato A. Sarmiento^a, Gil Rodrigues Santos^a.

^a Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, 77410-530, Brasil

^bDepartamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-000, Brasil

Short title: Field analysis of pesticides effects on *Apis* and non-*Apis* bees

Tables: 3

Figures: 6

Pages: 20

Corresponding authors: Eugênio E. Oliveira

Departamento de Entomologia

Universidade Federal de Viçosa

Viçosa, MG 36570-000

Tel. (55)(31) 3899-4027; Fax (55) (31) 3899-4012

Paulo Henrique Tschoeke

Campus Universitário de Gurupi

Universidade Federal do Tocantins

Gurupi, TO 77410-530

Tel. (55) (63) 3311-3577; Fax (55) (63) 3311-3501

Abstract

The injudicious management of agricultural pesticides has been shown to harm many insect species that assist in pollination, reducing the valuable contribution of this ecosystem service to agricultural production. Here, we conducted field experiments in the Brazilian Cerrado aiming to evaluate the impacts of botanical (e.g., azadirachtin-based insecticide) and synthetic (e.g., the pyrethroid insecticide deltamethrin and the fungicides thiophanate-methyl and chlorothalonil) pesticides on the flower visitation rates of naturally occurring bees, as well as on melon (*Cucumis melo* L.) production. We recorded four bee species (*Apis mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., and *Trigona spinipes*) visiting *C. melo* flowers, and moderate correlations were observed between the intensity of bee visitation and yield parameters (e.g., number of marketable fruits and fruit yield). The bee species were differentially affected by the pesticide treatments. Whereas *Plebeia* bees were not affected by any pesticide treatment, both *A. mellifera* and *Halictus* bees showed reduced visitation intensity after the application of deltamethrin or azadirachtin-based insecticides. Fungicide treatment alone did not influence the bee's visitation intensity. The deltamethrin-treated field study places produced significantly lighter marketable fruits, and the melon yield was significantly smaller in field study places treated with the azadirachtin-based insecticide. Collectively, our results reinforce the idea that botanical pesticides should not be exempted from risk assessment analysis and stress the importance of conducting complementary assays (e.g., field analysis) to select a pesticide management plan that minimizes impacts on pollination services performed by naturally occurring bee pollinators.

Keywords: pollination services; botanical insecticides; *Halictus* sp.; *Plebeia* sp.

1. Introduction

The utilization of pesticides (e.g., herbicides, insecticides, and fungicides) has enabled farmers to increase high quality food production ¹⁻³. However, the injudicious application of these agricultural tools has been shown to harm many insect species that assist in pollination ⁴⁻⁷, reducing the highly valuable contribution of this ecosystem service to agricultural production ^{8, 9}.

Declines in pollinator populations are considered such a threat to global food production, that USA- and European federal agencies have been attempting to establish strategies on pollination health that prevent or recover such phenomenon ^{10, 11}. Much attention was initially given to the pesticide-mediated reductions on the number of honey bee pollinators, mainly *A. mellifera* in the USA and in some European countries, but those initial concerns have been replaced by a broader concern related to the decline of pollinator bees in general ¹²⁻¹⁸

Although wild bee species exist in almost all terrestrial ecosystems, only the honey bee *A. mellifera* and some bumble bee species (*Bombus* sp.) are used for large scale managed pollination and toxicological studies. The majority of studies assessing pesticide impacts on pollinators have focused on *A. mellifera* with few studies assessing the susceptibility of wild bee species to synthetic or botanical pesticides ¹⁸⁻²³. It might be due to the equivocated and prevalent consensus that *A. mellifera* is extremely sensitive compared with other bee species ^{24, 25}. However, recent studies have registered higher susceptibility or presence of sublethal effects on other bee species despite the fact that these compounds were considered safe in a risk assessment with honey bees ^{18, 25-28}.

Some studies have demonstrated that crop productivity is improved by bee-mediated pollination ^{8, 9, 29}, whereas other investigations suggest that the benefits accrued from pollination are achieved only when plant protection (e.g. pest and disease management) practices are used ^{15, 30}. Thus, plant protection practices should be set in regional contexts ^{15, 29-32} to conserve the benefits provided by naturally occurring pollinator bees.

Here, we conducted field experiments in the Brazilian Cerrado to evaluate which plant protection practices (e.g., synthetic or botanical pesticides) would minimize impacts on naturally occurring pollinator bees (and their services) in melon (*Cucumis melo* L.) fields. Despite the fact that the Cerrado area covers approximately

23% of the Brazilian territory ^{33, 34}, investigations on the natural-occurring bee fauna (and pollination services) are scarce and crop management interventions (e.g., cultivar types, soil and plant protection practices) have not been developed with this region in mind. This research gap is surprising, because this ecological region is one of the world's most important agricultural frontiers ^{35, 36}, and the introduction of commercial plants dependent on insect-mediated pollination in commercial fields, such as the melon *Cucumis melo* L., has increased rapidly during the last decade ^{37, 38}.

2. Material and methods

2.1 Study site

The study was conducted between July 2014 and September 2014 at the experimental unit of the Universidade Federal do Tocantins (UFT) in Gurupi, Tocantins State, Brazil (latitude 11°44'46.55"S, longitude 49°3'6.595"W, and altitude of 280 m). The site is typical of the Brazilian Cerrado region. According to Köppen, the climate of the region is Aw, i.e., tropical hot and humid, with two climate seasons: a dry season from June to September, and a rainy season from October to April ³⁹.

2.2 Cultivation conditions and experimental design

We adapted the cultivation procedures normally used in the commercial melon fields of other Brazilian regions. The soil was prepared with two heavy diskings and a leveling disk harrow. Double-face (white-black) plastic canvas (150 mm thick) was used to cover the rows, with the white face up. Plants were watered via drip irrigation and a base fertilizer (N-P-K: 5-25-15; Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brazil) of 1000 kg/ha was applied. An application of 60 g of urea (45% N, Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brazil) and 60 g of potassium chloride (Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brazil) was added to each pit as a topdressing 20 and 40 days after planting. We used melon seeds of the cultivar 'Casca de Carvalho Comprido' purchased from Feltrin Sementes (Feltrin Sementes LTDA, Farroupilha, RS, Brazil). The melon seedlings were grown in disposable cups (with a volume of 0.3 L) containing

commercial substrate (Germinar XI, Bioflora Ltda, Prata, MG, Brazil) for vegetables, and the seedlings were transplanted 10 days after sowing.

We used a randomized block experimental design consisting of five treatments (pesticide regimens used in other Brazilian regions to control insect pests or to control fungal plant diseases) and four study fields. The distance between the study fields was 5 m in length. Each study field was divided into five plots. Each plot consisted of two rows, each row containing 10 pits. Two plants were planted per pit. The distance between the rows and pits was 1.5 and 0.5 m, respectively. The plots were 2 m apart.

The pesticide regimens evaluated were: (i) 0.3 mL/L Decis 25EC (deltamethrin [25 g a.i./L]; Bayer Cropscience LTDA, São Paulo-SP, Brazil); (ii) 2 g/L of Cerconil WP (commercial mixture of thiophanate-methyl [200 g a.i./kg] + chlorothalonil [200 g a.i./kg]; Iharabras Indústrias Químicas S.A, Sorocaba, SP, Brazil); (iii) simultaneous application of Decis 25EC and Cerconil WP (at the same dose of each pesticide used in the single applications); (iv) 300 mL/L of Neenmax (azadirachtin [1.2 g a.i./L]; Insetimax Indústria Química, Jardinópolis, SP, Brazil) and (v) tap water (control). The insecticide-based treatments were used to control lepidopteran larvae, primarily the pickleworm *Diaphania nitidalis* as well as the Brazilian leaf worm *Diabrotica speciosa* and aphids. The fungicide treatment was applied to control the soil-borne fungal pathogen *Didymella bryoniae*. Three pesticide applications were performed during the flowering season, with seven days apart and always at the late afternoon (around 5:00 pm). Extensive efforts were made to avoid the influence of pesticide drifts, by using manual sprayers and physical barriers (plastic canvas with 1.5 m height) during each pesticide application.

2.3 Diversity and flower visitation rates of pollinator bees

To distinguish pollinator bees from mere floral visitors, we only recorded bee species that were clearly carrying melon pollen and were making contact with the flower's anthers and stigmas. Specimens of these bees were captured, killed in a jar using ethyl acetate, prepared, and taxonomically identified at the Phytosanitary Laboratory (Federal University of Tocantins, Gurupi, TO, Brazil), where voucher specimens have been deposited.

We conducted preliminary investigations, and observed that visits of pollinator bees to *C. melo* flowers were influenced by the time of day, with visit intensity peaks between 8:00 and 11:00 a.m., decreasing to zero by approximately 12:00 p.m. Only a few *A. mellifera* individuals were observed during the afternoon time (mostly after 4:00 p.m). Thus, in this study, we only recorded the bee visitation frequency on the mornings (from 07:00 a.m. -12:00 a.m.). The 5th, 12th and 19th days of the flowering season were chosen for pesticide applications. The bee visitation frequencies were recorded on the morning of application days as well as mornings following the pesticide applications. These observations were always performed during the first 10 min of each anthesis hour, as described in other studies ^{37, 40, 41}. We used one observer per experimental block.

2.4 Yield traits under pesticide treatments

As the bee frequency evaluation was recorded per experimental field study place, all the following yield parameters were evaluated for the same experimental unit. We evaluated not only qualitative parameters such as the total soluble solids (TSS) and the total titratable acidity (direct titration in citric acid), but also quantitative parameters such as the number of marketable fruits, the average fruit weight, and the estimated yield per hectare. The total soluble solid determinations were performed by using a portable refractometer (Master T 2312, Atago do Brasil LTDA, Ribeirão Preto, SP, Brazil), and the values were expressed in °Brix. The total titratable acidity values were obtained according the procedures described by the Instituto Adolfo Lutz ⁴² and were expressed in percentage. The number of marketable fruits, average fruit weight, and estimated yield per hectare were calculated and subjected to correlation analysis with the number of bees that visited the experimental plots.

2.6 Statistical analysis

The number of each pollinator bees that visited *C. melo* flowers was subjected to repeated-measures analysis of variance (ANOVA). The percent change observed in the number of bees after each pesticide application (i.e., on the mornings of the 6th, 13th and 20th days of flowering season) were used as replicated measurement (within sample variation) to avoid problems of pseudoreplications in time ^{43, 44}. The GLM procedure with the PROFILE statement was used for this analysis ⁴⁵. In

addition, correlations between the number of bees of each bee species (as well as the bee abundance - i.e., the sum of all bees that were recorded on the 5th, 6th, 12th, 13th, 19th and 20th days of flowering) and productivity traits (the number of fruits set, the number of marketable fruits, the average fruit weight, the total soluble solids and the total titratable acidity) were determined PROC CORR; ⁴⁵. The assumptions of normality and homogeneity of variance were checked using the UNIVARIATE procedure ⁴⁵, but no data transformation was necessary.

3. Results

The climatic and weather data for 2014 are shown in Figure 1. The monthly average temperature varied from 20.9°C (minimum temperature) to 32.9°C (maximum temperature), and the rainfall was primarily concentrated from January to May and September to December, with an annual precipitation of 1428.6 mm (Fig. 1A). The average temperature and relative humidity on days when the visitation frequency was evaluated are presented in Fig. 1B. In the morning, when greater bee visitation rates were observed, the temperature ranged from 21.3°C to 33.9°C, and the average relative humidity ranged from 36.3% to 80.8%.

3.1 Diversity and flower visitation rates of pollinator bees

The honeybee *A. mellifera* L. and three wild bee species (*Halictus* sp., *Plebeia* sp., *Trigona spinipes* F.) were observed visiting both hermaphrodite and male flowers in all six evaluation days. However, the number of *T. spinipes* visits was too small (supplementary Table 1) for any statistical analysis. All bee species exhibited similar foraging behaviors and collected nectar and pollen. The repeated-measures ANOVA for the number of bees visiting *C. melo* flowers showed that the visitation rates of each bee species varied significantly with the anthesis hour, and was differentially affected by the pesticide treatments ($P < 0.05$; Tables 1-3). For *A. mellifera* and *Halictus* bees, significant effects were also observed for the interactions between the application of deltamethrin+fungicides and anthesis hour ($P < 0.05$; Tables 1 and 2).

The visitation rates of *Plebeia* bees were not affected by either botanically based or synthetic pesticides, but decreased naturally reduced at the end of flowering period (Table 3, Fig. 2). Without application of pesticides (i.e control treatment), the visitation intensity of *A. mellifera* decreased significantly over the

flowering period, and peaked between 8:00 and 11:00 a.m. (Fig. 3A). The visitation rates of *Halictus* bees in the absence of pesticide treatment differed from those observed for *A. mellifera*, being significantly (Table 2; Fig. 3B) higher after the middle (i.e., the second week) of flowering period. For both *A. mellifera* and *Halictus* bees, significant reductions in visitations were observed in the field study places treated with deltamethrin (alone or mixed with fungicides) or neem-based insecticides (Figs 4 and 5). The treatment with fungicides alone did not impact the visitation intensity of any pollinator bees (Tables 1-3).

3.2 Yield traits under pesticide treatments

Although the deltamethrin-treated field study places produced similar (Fig. 6A) quantities of marketable fruits compared to the control places, these fruits were the lightest fruits produced among the field study places ($F = 18.0$, $df = 4$, $P < 0.0001$; Fig. 6B). The field study places treated with the azadirachtin-based insecticide produced fewer marketable fruits ($F = 3.9$, $df = 4$, $P = 0.023$; Fig. 6A), and resulted in the smallest fruit yield ($F = 3.9$, $df = 4$, $P = 0.023$; Fig. 6C). As shown in Fig. 6C, the pesticide treatment that resulted in the most satisfactory fruit yield was the joint application of deltamethrin and fungicides (i.e., thiophanate-methyl + chlorothalonil). No significant differences were observed for the qualitative parameters total of soluble solids ($F = 1.5$, $df = 4$, $P = 0.240$) and total titratable acidity ($F = 2.7$, $df = 4$, $P = 0.069$).

3.3 Correlations between the number of visiting bees and productivity traits

Our correlation analysis showed that the number of marketable fruits was significantly correlated with the number of *A. mellifera* ($r = 0.55$, $P = 0.013$), and with bee abundance ($r = 0.71$, $P < 0.0001$). The fruit yield was also significantly correlated with the number of *A. mellifera* ($r = 0.45$, $P = 0.047$), as well as bee abundance ($r = 0.58$, $P = 0.007$).

4. Discussion

The effects of pesticides on pollinator biodiversity represent a global trend that is garnering much concern [Z. 26, 46-49](#). In the current study, we recorded four naturally occurring bee species (*Apis mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., and *Trigona*

spinipes) contributing to the pollination of melon fields in the Brazilian Cerrado. We found variation in visitation patterns among *Apis mellifera*, *Halictus* sp., and *Plebeia* bees where no pesticide were applied, but the flower-visiting rates of these bees was equally affected by application of synthetic (e.g. the pyrethroid deltamethrin) and botanical (e.g. neem-based) insecticides. However, sole applications of synthetic fungicides (such as thiophanate-methyl and chlorothalonil) did not impact these bee's visitation rates.

Variation in visitation patterns among *Apis mellifera*, *Halictus* sp., and *Plebeia* bees might be related to the ecology of these pollinators. While *A. mellifera* is considered a generalist/opportunist with regard to food resources, able to exploit a variety of food sources over long distances from the colony⁵⁰, and select only those resources with the greatest resource availability or with greatest energy gain⁵¹, the *Halictus* bees have small bodies (limiting their flight capacity), form colonies with small numbers of individuals, and colonies must be located in the vicinity of food sources and nest-building materials for nest building⁵²⁻⁵⁴.

How pesticide application influences bee-mediated pollination is not thoroughly understood and recent investigations have generated conflicting results^{15, 29, 30}. While pollination mitigated yield gaps more than pesticide use in tropical smallholder gardens²⁹, other investigations suggest that the benefits accrued from pollination are linked to plant protection (e.g., pest and disease management) practices^{15, 30}.

Our productivity results suggest that the situation is even more complex, and demonstrate that sustainable recommendations for pollinator management need to be tailored to regional contexts. Here, effective pest control using a pesticide that is considered sustainable (i.e., a neem-based insecticide) not only significantly reduced the visitation intensities of *A. mellifera* and *Halictus* sp., but also resulted in the lowest productivity. This result reinforces the argument that botanical insecticides should not be exempted from risk assessment analysis^{21, 24, 55}, and stresses the importance of conducting complementary assays (e.g., field analysis) for botanically based insecticides. Indeed, neem-based pesticides have been considered as excellent candidates for controlling honey bee pests⁵⁶⁻⁵⁸, but investigations characterizing the field effects of these botanical pesticides on non-*Apis* pollinator bees are still very scarce.

Considering that equally effective pest control was achieved by the sole application of the synthetic insecticide deltamethrin, which also reduced the visitation rates of *A. mellifera* and *Halictus* sp., but did not alter the productivity levels, we can not rule out the possibility that the neem-based insecticide might have affected some physiological processes of the melon plants (e.g., phytotoxic actions), which mitigated the benefits provided by the pest control. For instance, neem plant products had shown phytotoxic effects for weeds and crops ^{59, 60}. The similar susceptibility of *Halictus* bees and *A. mellifera* to deltamethrin- and neem-based insecticide emphasizes the limited value of extrapolating the results of toxicity bioassays that compare *A. mellifera* to wild pollinator species. Other studies have documented sublethal insecticide effects on other bee species, even though these compounds were considered safe in a risk assessment with honey bees ^{18, 21, 24, 27, 28}. The differential life histories (e.g., sociality, body size, target-site sensitivity, and capacity for detoxification by enhanced metabolism) of these pollinator bees might also help to explain these different pesticide susceptibilities ^{24, 61, 62}.

Consistent with results of previous studies ^{15, 30}, the highest melon productivities in this investigation were achieved in study field places treated with both pest and plant disease control agents. This demonstrates that the judicious application of such agricultural practices potentiates the pollination services provided by the natural-occurring pollinator bees. To achieve this, however, the chosen form of pesticide management needs to facilitate the maintenance or increase the diversity and abundance of the pollinator bees that tolerates to these agricultural practices. For melon production in the Brazilian Cerrado, such practices need to promote the maintenance of *Plebeia* bees in the vicinity of melon fields, because this species was the least affected by all pesticide treatments. Collectively, the present investigation reinforces the contribution of *Apis mellifera*, *Halictus* sp., *Plebeia* sp., and *T. spinipes* to the pollination of melon plants in Brazilian Cerrado, as recently suggested elsewhere ³⁷, but also identifies specific forms of pesticide management that optimize melon production in the Cerrado region. Further investigations on pollination benefits and other management interventions (e.g., soil and plant management) that contextualize melon production in this one of the world's most important agricultural frontiers are urgently needed.

Acknowledgments

We thank Dr. Khalid Haddi and Dr. Hudson Tomé for critical reviews of the manuscript. This work was supported by grants from the Secretaria do Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Inovação do Estado do Tocantins; the CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) Foundation; the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq); the Minas Gerais State Foundation for Research Aid (FAPEMIG) and the Arthur Bernardes Foundation (FUNARBE).

References

1. Cooper, J.; Dobson, H., The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Protection* **2007**, *26*, (9), 1337-1348.
2. Macfadyen, S.; Banks, J. E.; Stark, J. D.; Davies, A. P., Using semifield studies to examine the effects of pesticides on mobile terrestrial invertebrates. *Annual Review of Entomology* **2014**, *59*, (1), 383-404.
3. Skevas, T.; Stefanou, S. E.; Lansink, A. O., Do farmers internalise environmental spillovers of pesticides in production? *Journal of Agricultural Economics* **2013**, *64*, (3), 624-640.
4. Breeze, T.; Vaissière, B.; Bommarco, R.; Petanidou, T.; Seraphides, N.; Kozák, L.; Scheper, J.; Jacobus, C.; Biesmeijer, K.; Kleijn, D.; Gyldenkærne, S.; Moretti, M.; Holzschuh, A.; Steffan-Dewenter, I.; Stout, J.; Pärtel, M.; Zobel, M.; S., P., Agricultural policies exacerbate honeybee pollination service supply-demand mismatches across Europe. . *PLoS ONE* *9*(1): e82996. **2014**.
5. Fairbrother, A.; Purdy, J.; Anderson, T.; Fell, R., Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2014**, *33*, (4), 719-731.
6. Johnson, R. M., Honey bee toxicology. *Annual Review of Entomology* **2015**, *60*, (1), 415-434.
7. Muratet, A.; Fontaine, B., Contrasting impacts of pesticides on butterflies and bumblebees in private gardens in France. *Biological Conservation* **2015**, *182*, (0), 148-154.
8. Garibaldi, L. A.; Steffan-Dewenter, I.; Winfree, R.; Aizen, M. A.; Bommarco, R.; Cunningham, S. A.; Kremen, C.; Carvalheiro, L. G.; Harder, L. D.; Afik, O.; Bartomeus, I.; Benjamin, F.; Boreux, V.; Cariveau, D.; Chacoff, N. P.; Dudenhöffer, J. H.; Freitas, B. M.; Ghazoul, J.; Greenleaf, S.; Hipólito, J.; Holzschuh, A.; Howlett, B.; Isaacs, R.; Javorek, S. K.; Kennedy, C. M.; Krewenka, K. M.; Krishnan, S.; Mandelik, Y.; Mayfield, M. M.; Motzke, I.; Munyuli, T.; Nault, B. A.; Otieno, M.; Petersen, J.;

Pisanty, G.; Potts, S. G.; Rader, R.; Ricketts, T. H.; Rundlöf, M.; Seymour, C. L.; Schüepp, C.; Szentgyörgyi, H.; Taki, H.; Tscharrntke, T.; Vergara, C. H.; Viana, B. F.; Wanger, T. C.; Westphal, C.; Williams, N.; Klein, A. M., Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* **2013**, 339, (6127), 1608-1611.

9. Klatt, B. K.; Holzschuh, A.; Westphal, C.; Clough, Y.; Smit, I.; Pawelzik, E.; Tscharrntke, T., Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **2014**, 281, (1775).

10. White House, Memorandum for heads of executive departments and agencies. Subject: Creating a federal strategy to promote the health of oney bees and other pollinators. In: <http://www.whitehouse.gov/the-press-office/2014/06/20/presidential-memorandum-creating-federal-strategy-promote-health-honey-b> [accessed on 13 April 2015]. In 2014.

11. EFSA, E. F. S. A., Towards an integrated environmental risk assessment of multiple stressors on bees: review of research projects in Europe, knowledge gaps and recommendations. *EFSA Journal* 12(3): 3594. **2014**.

12. Potts, S. G.; Biesmeijer, J. C.; Kremen, C.; Neumann, P.; Schweiger, O.; Kunin, W. E., Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* **2010**, 25, (6), 345-353.

13. Winfree, R.; Williams, N. M.; Dushoff, J.; Kremen, C., Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. *Ecol. Lett.* **2007**, 10, (11), 1105-1113.

14. Fürst, M. A.; McMahon, D. P.; Osborne, J. L.; Paxton, R. J.; Brown, M. J. F., Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature* **2014**, 506, (7488), 364-366.

15. Melathopoulos, A. P.; Tyedmers, P.; Cutler, G. C., Contextualising pollination benefits: effect of insecticide and fungicide use on fruit set and weight from bee pollination in lowbush blueberry. *Annals of Applied Biology* **2014**, 165, (3), 387-394.

16. Rondeau, G.; Sanchez-Bayo, F.; Tennekes, H. A.; Decourtye, A.; Ramirez-Romero, R.; Desneux, N., Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. *Sci. Rep.* **2014**, 4.

17. Rundlof, M.; Andersson, G. K. S.; Bommarco, R.; Fries, I.; Hederstrom, V.; Herbertsson, L.; Jonsson, O.; Klatt, B. K.; Pedersen, T. R.; Yourstone, J.; Smith, H. G., Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature* **2015**, advance online publication, doi:10.1038/nature14420.

18. Del Sarto, M.; Oliveira, E.; Guedes, R.; Campos, L., Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. *Apidologie* **2014**, 45, (5), 626-636.

19. Tomé, H.; Martins, G.; Lima, M.; Campos, L. A. O.; Guedes, R., Imidacloprid-induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. *PLoS ONE* **2012**, 7, (6), e38406.

20. Valdovinos-Núñez, G. R.; Quezada-Euán, J. J. G.; Ancona-Xiu, P.; Moo-Valle, H.; Carmona, A.; Sánchez, E. R., Comparative Toxicity of Pesticides to Stingless Bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *J. Econ. Entomol.* **2009**, *102*, (5), 1737-1742.
21. Barbosa, W.; De Meyer, L.; Guedes, R.; Smagghe, G., Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology* **2015**, *24*, (1), 130-142.
22. Stanley, J.; Sah, K.; Jain, S. K.; Bhatt, J. C.; Sushil, S. N., Evaluation of pesticide toxicity at their field recommended doses to honey bees, *Apis cerana* and *A. mellifera* through laboratory, semi-field and field studies. *Chemosphere* **2015**, *119*, (0), 668-674.
23. Jacob, C. R. O.; Soares, H. M.; Nocelli, R. C. F.; Malaspina, O., Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. *Pest Management Science* **2015**, *71*, (1), 114-122.
24. Decourtye, A.; Henry, M.; Desneaux, N., Overhaul pesticide testing on bees. *Nature* **2013**, *497*, 188.
25. Arena, M.; Sgolastra, F., A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. *Ecotoxicology* **2014**, *23*, (3), 324-334.
26. Barbosa, W. F.; Smagghe, G.; Guedes, R. N. C., Pesticides and reduced-risk insecticides, native bees and Pantropical stingless bees: pitfalls and perspectives. *Pest Management Science* **2015**, n/a-n/a.
27. Ollerton, J.; Erenler, H.; Edwards, M.; Crockett, R., Extinctions of aculeate pollinators in Britain and the role of large-scale agricultural changes. *Science* **2014**, *346*, (6215), 1360-1362.
28. Tomé, H. V. V.; Barbosa, W. F.; Martins, G. F.; Guedes, R. N. C., Spinosad in the native stingless bee *Melipona quadrifasciata*: Regrettable non-target toxicity of a bioinsecticide. *Chemosphere* **2015**, *124*, (0), 103-109.
29. Motzke, I.; Tschardtke, T.; Wanger, T. C.; Klein, A.-M., Pollination mitigates cucumber yield gaps more than pesticide and fertilizer use in tropical smallholder gardens. *Journal of Applied Ecology* **2015**, *52*, (1), 261-269.
30. Lundin, O.; Smith, H. G.; Rundlöf, M.; Bommarco, R., *When ecosystem services interact: crop pollination benefits depend on the level of pest control*. 2013; Vol. 280.
31. Boreux, V.; Kushalappa, C. G.; Vaast, P.; Ghazoul, J., Interactive effects among ecosystem services and management practices on crop production: Pollination in coffee agroforestry systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2013**, *110*, (21), 8387-8392.
32. Baldock, K. C. R.; Goddard, M. A.; Hicks, D. M.; Kunin, W. E.; Mitschunas, N.; Osgathorpe, L. M.; Potts, S. G.; Robertson, K. M.; Scott, A. V.; Stone, G. N.;

Vaughan, I. P.; Memmott, J., *Where is the UK's pollinator biodiversity? The importance of urban areas for flower-visiting insects*. 2015; Vol. 282.

33. Diniz-Filho, J. A. F.; Bini, L. M.; Loyola, R. D.; Nabout, J. C.; Rangel, T. F., Conservation biogeography and climate change in the Brazilian *Cerrado*. *Nat. Cons.* **2009**, 7, 100-112.

34. Ratter, J. A.; Ribeiro, J. F.; Bridgewater, S., The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. *Ann. Bot.* **1997**, 80, (3), 223-230.

35. Mittermeier, R. A.; Robles-Gil, P.; Hoffmann, M.; Pilgrim, J. D.; Brooks, T. B.; Mittermeier, C. G.; Lamoreux, J. L.; Fonseca, G. A. B., *Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. . CEMEX: Mexico City. Mexico, 2004.

36. Maia, S. M. F.; Carvalho, J. L. N.; Cerri, C. E. P.; Lal, R.; Bernoux, M.; Galdos, M. V.; Cerri, C. C., Contrasting approaches for estimating soil carbon changes in *Amazon* and *Cerrado* biomes. *Soil and Tillage Research* **2013**, 133, (0), 75-84.

37. Tschoeke, P. H.; Oliveira, E. E.; Dalcin, M. S.; Silveira-Tschoeke, M. C. A. C.; Santos, G. R., Diversity and flower-visiting rates of bee species as potential pollinators of melon (*Cucumis melo* L.) in the Brazilian Cerrado. *Scientia Horticulturae* **2015**, 186, (0), 207-216.

38. IBGE, Informações sobre culturas permanentes: Área destinada à colheita e colhida, quantidade e valor da produção. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=p&o=27> accessed on July 26th 2014. **2014**.

39. Samani, Z. A.; Hargreaves, G. H., *A crop water evaluation manual for Brazil*. Utah State University: Logan, 87pp, 1985.

40. Courcelles, D. M. M.; Button, L.; Elle, E., Bee visit rates vary with floral morphology among highbush blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. App. Entomol.* **2013**, 137, (9), 693-701.

41. Wolf, S.; Lensky, Y.; Paldi, N., Genetic variability in flower attractiveness to honeybees (*Apis mellifera* L.) within the genus *Citrullus*. *HortScience* **1999**, 34, (5), 860-863.

42. Instituto Adolf Lutz, *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 5th ed.; Instituto Adolf Lutz: São Paulo, SP, Brasil, 2008; p 1020.

43. Paine, M. D., Repeated measures designs. *Env. Toxicol. Chem.* **1996**, 15, (9), 1439-1441.

44. von Ende, C. N., Repeated-measures analysis: growth and other time-dependent measures. In *Design and Analysis of Ecological Experiments*, Scheiner, S.; Gurevitch, J., Eds. Chapman & Hall: New York, 1993; pp 113-137.

45. SAS Institute, *SAS/STAT User's Guide*. Cary, NC, USA., 2008.

46. Staveley, J. P.; Law, S. A.; Fairbrother, A.; Menzie, C. A., A causal analysis of observed declines in managed honey bees (*Apis mellifera*). *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* **2013**, *20*, (2), 566-591.
47. Cutler, C. G.; Scott-Dupree, C. D., A field study examining the effects of exposure to neonicotinoid seed-treated corn on commercial bumble bee colonies. *Ecotoxicology* **2014**, *23*, (9), 1755-1763.
48. Cutler, C. G.; Scott-Dupree, C. D.; Sultan, M.; McFarlane, M.; Brewer, L., A large-scale field study examining effects of exposure to clothianidin seed-treated canola on honey bee colony health, development, and overwintering success. *PeerJ* **2014**, *2*, e652.
49. Kessler, S. C.; Tiedeken, E. J.; Simcock, K. L.; Derveau, S.; Mitchell, J.; Softley, S.; Stout, J. C.; Wright, G. A., Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides. *Nature* **2015**, *advance online publication*, doi:10.1038/nature14414.
50. Beekman, M.; Ratnieks, F. L. W., Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L. *Functional Ecology* **2000**, *14*, (4), 490-496.
51. Seeley, T., *Honeybee ecology: a study of adaptation in social life*. Princeton: Princeton University Press, 192 p: 1985.
52. Michener, C., *The bees of the world*. 2a. ed. Baltimore. The Johns Hopkins University Press. 2007, 953p.: 2007; p 953.
53. Zurbuchen, A.; Landert, L.; Klaiber, J.; Müller, A.; Hein, S.; Dorn, S., Maximum foraging ranges in solitary bees: only few individuals have the capability to cover long foraging distances. *Biological Conservation* **2010**, *143*, (3), 669-676.
54. Wray, J. C.; Neame, L. A.; Elle, E., Floral resources, body size, and surrounding landscape influence bee community assemblages in oak-savannah fragments. *Ecological Entomology* **2014**, *39*, (1), 83-93.
55. EFSA, E. F. S. A., *Scientific opinion on the science behind the development of a risk assessment of plant protection products on bees (Apis mellifera, Bombus spp. and solitary bees)*. EFSA J 10:2668: 2012.
56. Melathopoulos, A. P.; Winston, M. L.; Whittington, R.; Smith, T.; Lindberg, C.; Mukai, A.; Moore, M., *Comparative laboratory toxicity of neem pesticides to honey bees (Hymenoptera: Apidae), their mite parasites Varroa jacobsoni (Acari: Varroidae) and Acarapis woodi (Acari: Tarsonemidae), and brood pathogens Paenibacillus larvae and Ascophaera apis*. 2000; Vol. 93, p 199-209.
57. Isman, M. B., Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* **2006**, *51*, (1), 45-66.
58. González-Gómez, R.; Otero-Colina, G.; Villanueva-Jiménez, J.; Peña-Valdivia, C.; Santizo-Rincón, J., Repellency of the oily extract of neem seeds (*Azadirachta*

indica) against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Exp Appl Acarol* **2012**, 56, (3), 261-270.

59. Paul, P. K.; Sharma, P. D., *Azadirachta indica* leaf extract induces resistance in barley against leaf stripe disease. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **2002**, 61, (1), 3-13.

60. Xuan, T. D.; Tsuzuki, E.; Hiroyuki, T.; Mitsuhiro, M.; Khanh, T. D.; Chung, I.-M., Evaluation on phytotoxicity of neem (*Azadirachta indica*. A. Juss) to crops and weeds. *Crop Protection* **2004**, 23, (4), 335-345.

61. Brittain, C.; Potts, S. G., The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. *Basic Appl. Ecol.* **2011**, 12, 321-331.

62. Poquet, Y.; Kairo, G.; Tchamitchian, S.; Brunet, J.-L.; Belzunces, L. P., Wings as a new route of exposure to pesticides in the honey bee. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2015**, n/a-n/a.

Figure Legends

Fig. 1. Climatic data obtained at the Experimental Unit of the Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Tocantins State, Brazil. **A.** The monthly minimum, maximum, and average temperature for the year 2014. **B.** The average temperature and relative humidity on the six evaluation days (5th, 6th, 12th, 13th, 19th and 20th days of flowering).

Fig. 2. Visitation rates of *Plebeia* sp. at *C. melo* flowers under Cerrado conditions. The number of *Plebeia* sp. was significantly affected only by the anthesis hour ($P < 0.05$; Table 3) and flowering season (time), and not by the pesticide applications ($P > 0.05$; Table 3). The average number of visits on the days before and after the pesticide applications is indicated by black (cumulative average for the 5th and 6th days of flowering), red (cumulative average for 12th and 13th days of flowering) and blue (cumulative average for 19th and 20th days of flowering) symbols.

Fig. 3. Visitation rates of *A. mellifera* and *Halictus* bees at *C. melo* flowers under Cerrado conditions, and in the absence of pesticide treatments. The number of visits

by *A. mellifera* (**A**) and *Halictus* bees (**B**) was affected by the anthesis hour and by the flowering period ($P < 0.05$, Tables 2-3). While *A. mellifera* visit rates were decreased significantly over the flowering period, the visitation rates of *Halictus* bees were significantly (Table 2; Fig. 3B) higher after the middle (i.e., second week) of flowering period.

Fig. 4. Effects of pesticides on the visitation rates of *A. mellifera* at *C. melo* flowers under Cerrado conditions. **A.** Number of visits by *A. mellifera* was not affected by application of tap water ($P > 0.05$, Table 1). **B.** The application of neem-based insecticide (**B**), or deltamethrin alone (**C**) or mixed with fungicides (**D**) significantly reduced the visitation intensity of *A. mellifera* ($P < 0.05$, Table 1). The percent change in the number of visits on the day after the pesticide applications are indicated by in black (after 1st application), red (after 2nd application) and blue (after 3rd application) symbols.

Fig. 5. Effects of pesticides on the visitation rates of *Halictus* sp. at *C. melo* flowers under Cerrado conditions. **A.** Number of visits by *Halictus* sp. was not affected by application of tap water ($P > 0.05$, Table 2). **B.** The application of neem-based insecticide (**B**), or deltamethrin alone (**C**) or mixed with fungicides (**D**) significantly reduced the visitation intensity of *Halictus* sp. ($P < 0.05$, Table 2). The percent change in the number of visits on the day after the pesticide applications are indicated by in black (after 1st application), red (after 2nd application) and blue (after 3rd application) symbols.

Fig. 6. Evaluation of the number of marketable fruits per plant (**A**), average fruit weight (**B**), and productivity (**C**) of *C. melo* planted under Cerrado conditions. Box plots indicate the range of data (lower and upper quartiles and extreme values), median, and average (symbols). Box plots with the same letter indicate that there

were no significant differences among the pesticide treatments using Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

Table 1. Repeated measures analysis of variance for the total number of *Apis mellifera* at *C. melo* flowers.

Sources of variation	df	<i>Control</i>			<i>deltamethrin</i>			<i>Fungicide</i>			<i>deltamethrin + fungicide</i>			<i>neem</i>		
		F	P		F	P		F	P		F	P		F	P	
Between samples																
Hour (H)	4	2.92	0.037*		6.71	0.0006*		8.42	<0.001*		20.6	<0.001*		6.58	0.0007*	
Pesticide application (PA)	1	0.04	0.83		4.81	0.0362*		1.47	0.24		10.8	0.0026*		9.82	0.0039*	
H x PA	4	0.78	0.55		1.55	0.21		0.25	0.91		3.07	0.0315*		1.20	0.33	
Error	30	-	-		-	-		-	-		-	-		-	-	
	df _{den} /df _{num}	Wilks' lambda	F	P	Wilks' lambda	F	P	Wilks' lambda	F	P	Wilks' Lambda	F	P	Wilks' lambda	F	P
Within Samples																
Time (T)	29 /2	0.305	10.3	0.0004*	0.975	33.1	<0.001*	0.642	7.82	0.002*	0.429	19.3	<0.001*	0.647	7.65	0.0022*
T x H	58 /8	0.647	1.81	0.09	0.546	2.56	0.0253*	0.819	0.74	0.66	0.646	1.77	0.10	0.573	2.24	0.0372*
T x PA	29 /2	0.995	0.07	0.94	0.885	1.88	0.17	0.876	1.98	0.16	0.416	20.3	<0.001*	0.955	0.66	0.52
T x H x PA	58 /8	0.507	2.93	0.008*	0.631	1.87	0.08	0.656	1.64	0.14	0.502	2.98	0.0072*	0.793	0.86	0.57

* Significant at P < 0.05.

Table 2. Repeated measures analysis of variance for the total number of *Halictus* sp. at *C. melo* flowers.

Sources of variation	df	<i>control</i>			<i>deltamethrin (d)</i>			<i>fungicide(f)</i>			<i>deltamethrin + fungicide</i>			<i>neem</i>			
		F	<i>P</i>		F	<i>P</i>		F	<i>P</i>		F	<i>P</i>		F	<i>P</i>		
Between samples																	
Hour (H)	4	13.30	<0.0001*		7.28	0.0003*		7.58	0.0002*		20.58	<0.001*		11.05	<0.001*		
Pesticide application (PA)	1	1.29	0.27		5.75	0.0329*		0.17	0.68		10.77	0.0002*		4.86	0.0353*		
H x PA	4	1.71	0.17		1.14	0.36		1.19	0.33		3.06	0.0315*		1.67	0.18		
Error	30	-	-		-	-		-	-		-	-		-	-		
	<i>df</i> _{den} / <i>df</i> _{num}	Wilks' lambda	F	<i>P</i>	Wilks' lambda	F	<i>P</i>	Wilks' lambda	F	<i>P</i>	Wilks' Lambda a	F	<i>P</i>	Wilks' lambda	F	<i>P</i>	
Within Samples																	
Time (T)	29 /2	0.251	43.4	<0.0001*	0.299	33.3	<0.001*	0.374	27.2	<0.001*	0.429	19.9	<0.001*	0.423	19.7	<0.001*	
T x H	58 /8	0.349	5.02	<0.0001*	0.422	3.91	0.0010*	0.329	5.38	<0.001*	0.646	1.77	0.10	0.402	4.17	0.0010*	
T x PA	29 /2	0.437	18.7	<0.0001*	0.400	21.7	<0.001*	0.816	3.27	0.0523	0.417	20.3	<0.001*	0.572	4.77	0.0161*	
T x H x PA	58 /8	0.370	4.67	0.0002*	0.530	2.70	0.0135*	0.683	1.52	0.16	0.502	2.98	0.0072*	0.796	0.88	0.54	

* Significant at $P < 0.05$.

Table 3. Repeated measures analysis of variance for the total number of *Plebeia* sp. at *C. melo* flowers.

Sources of variation	df	<i>control</i>			<i>deltamethrin (d)</i>			<i>fungicide(f)</i>			<i>deltamethrin + fungicide</i>			<i>neem</i>		
		F	P		F	P		F	P		F	P	F	P		
Between samples																
Hour (H)	4	15.42	<0.0001*		13.97	<0.0001*		18.93	<0.0001*		14.52	<0.001*		12.61	<0.001*	
Pesticide application (PA)	1	3.16	0.08		0.12	0.73		3.31	0.07		1.12	0.29		0.01	0.94	
H x PA	4	0.24	0.91		1.41	0.25		2.47	0.06		0.31	0.87		0.39	0.81	
Error	30	-	-		-	-		-	-		-	-		-	-	
	df_{den}/df_{num}	Wilks' lambda	F	P	Wilks' lambda	F	P	Wilks' lambda	F	P	Wilks' Lambda	F	P	Wilks' lambda	F	P
Within Samples																
Time (T)	29 /2	0.382	23.4	<0.0001*	0.207	55.5	<0.001*	0.332	29.1	<0.001*	0.443	18.2	<0.001*	0.341	28.0	<0.001*
T x H	58 /8	0.583	2.24	0.0369*	0.435	3.74	0.0014*	0.460	3.43	0.0027*	0.524	2.76	0.0118*	0.520	2.81	0.0107*
T x PA	29 /2	0.956	0.67	0.52	0.963	21.7	0.58	0.863	2.28	0.12	0.998	0.02	0.97	0.921	1.23	0.30
T x H x PA	58 /8	0.600	2.11	0.0496*	0.840	2.70	0.72	0.680	1.54	0.16	0.502	0.90	0.52	0.730	1.24	0.29

* Significant at P < 0.05.

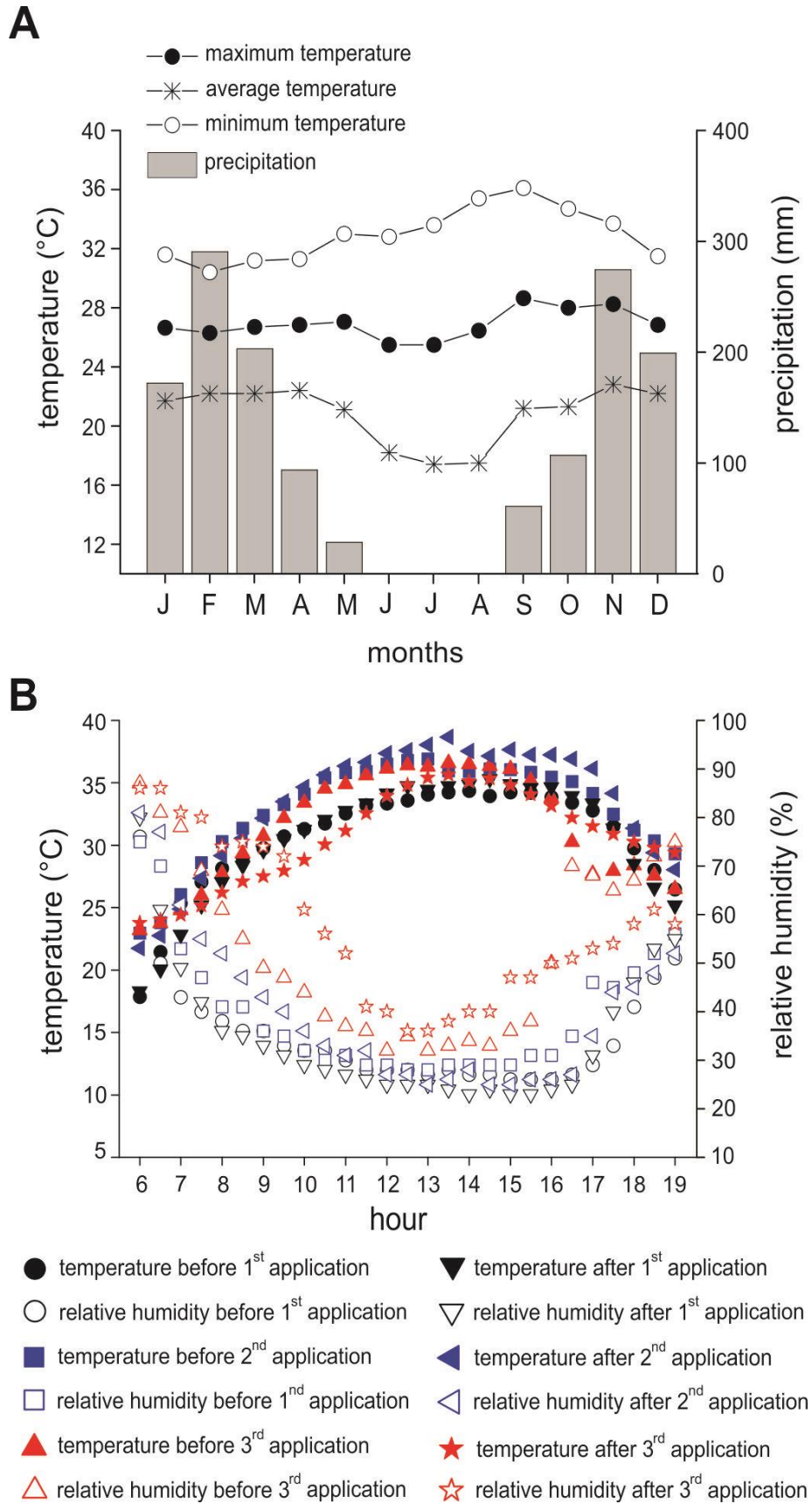


Figure 1

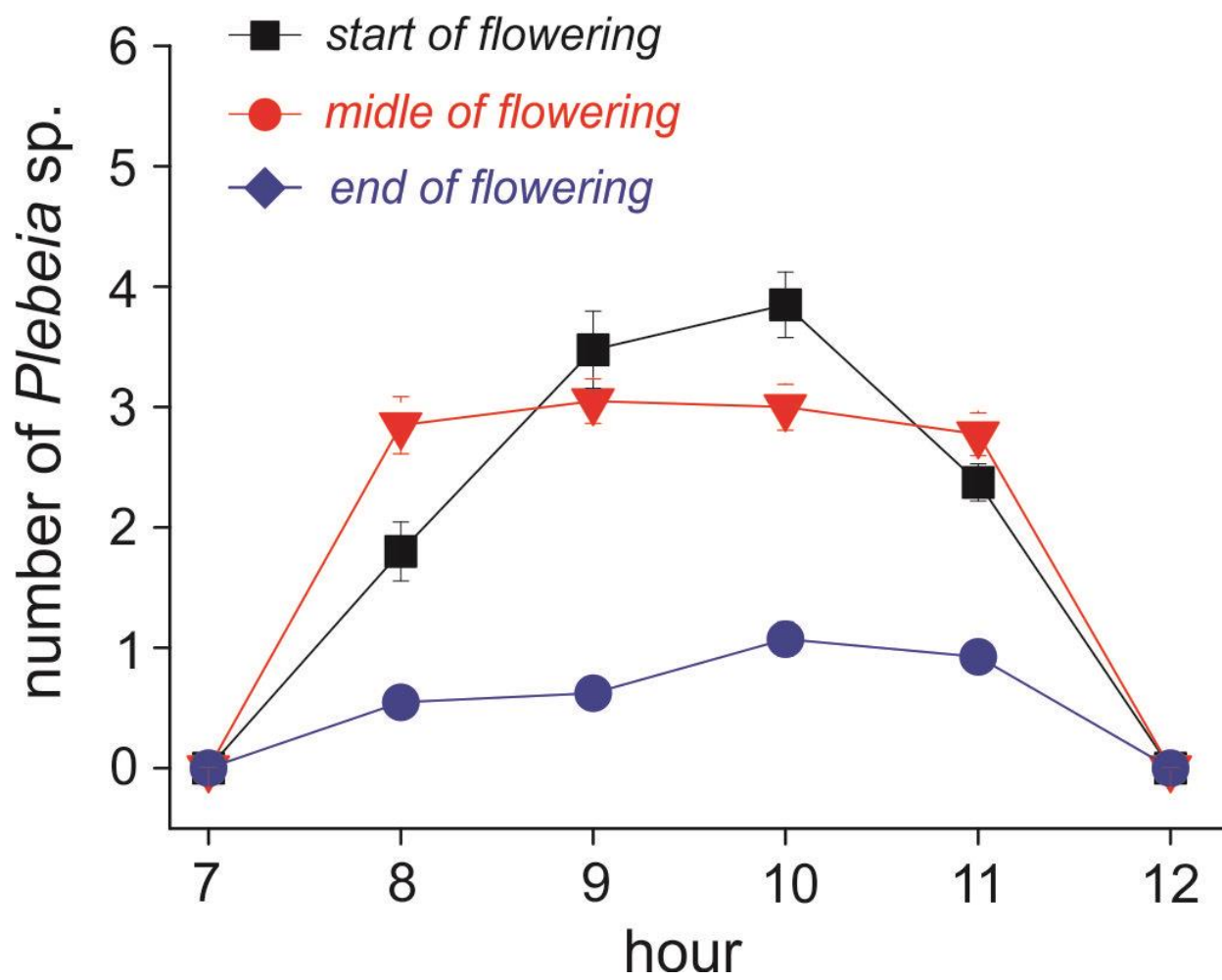


Figure 2

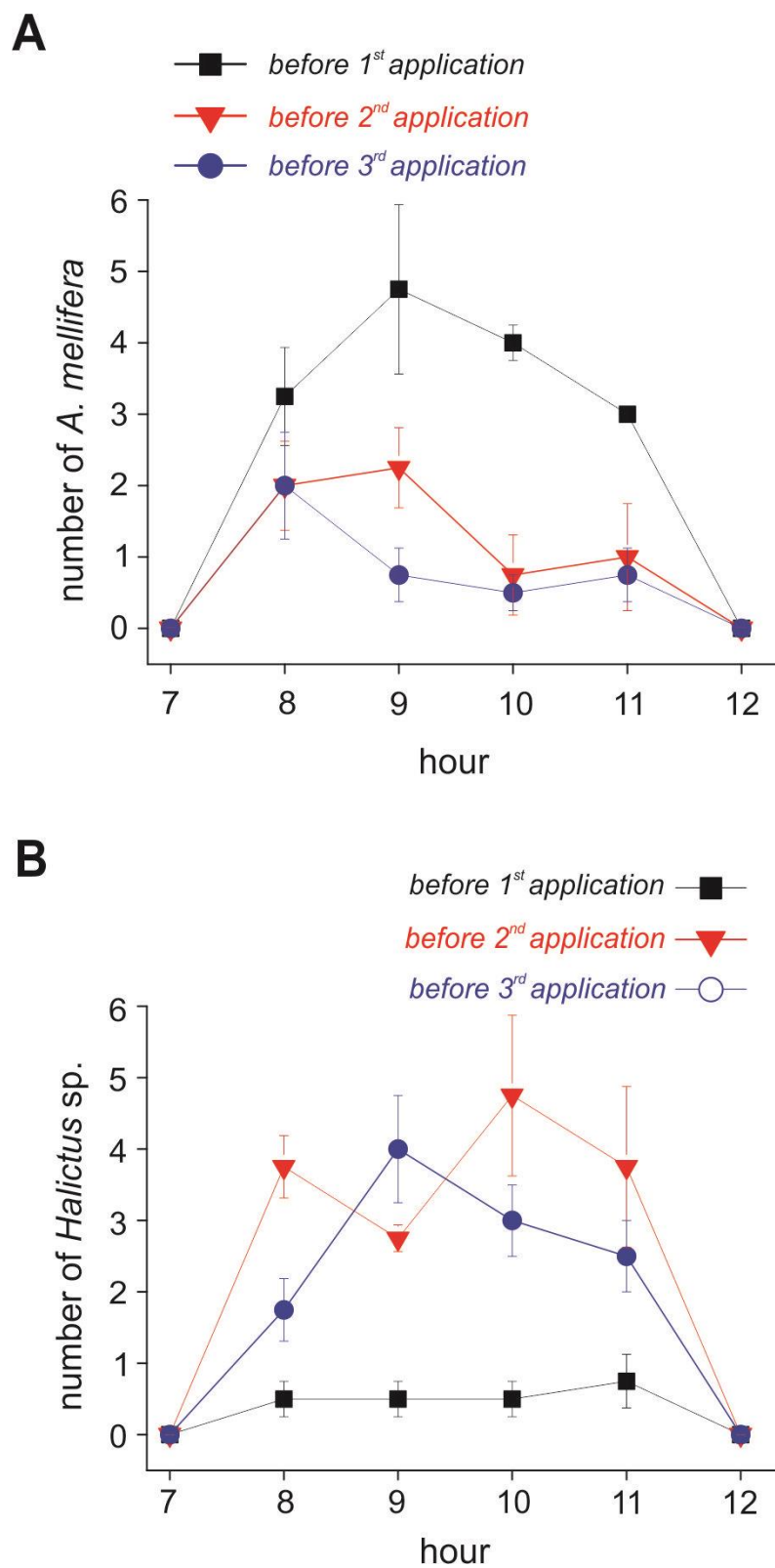


Figure 3

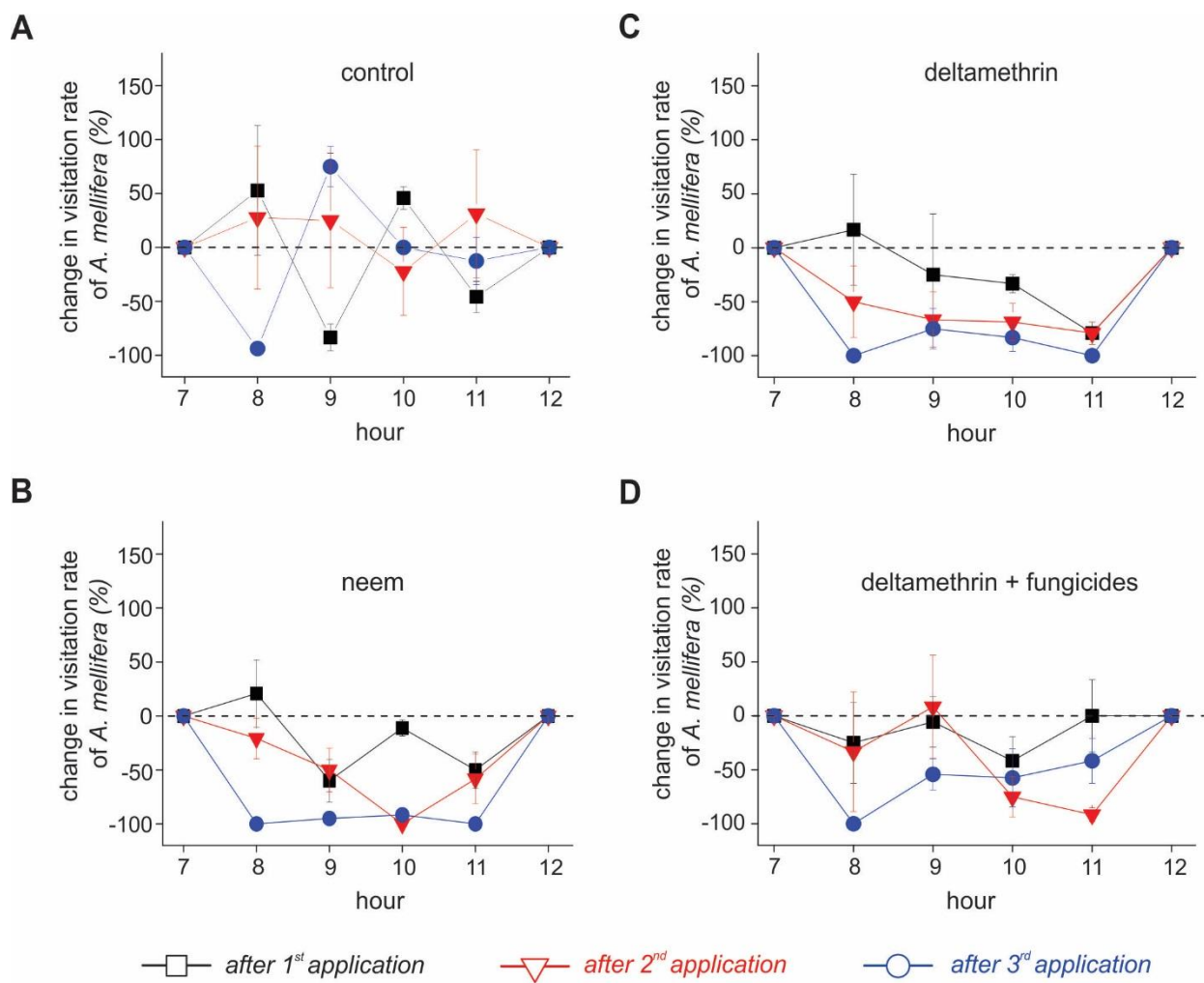


Figure 4

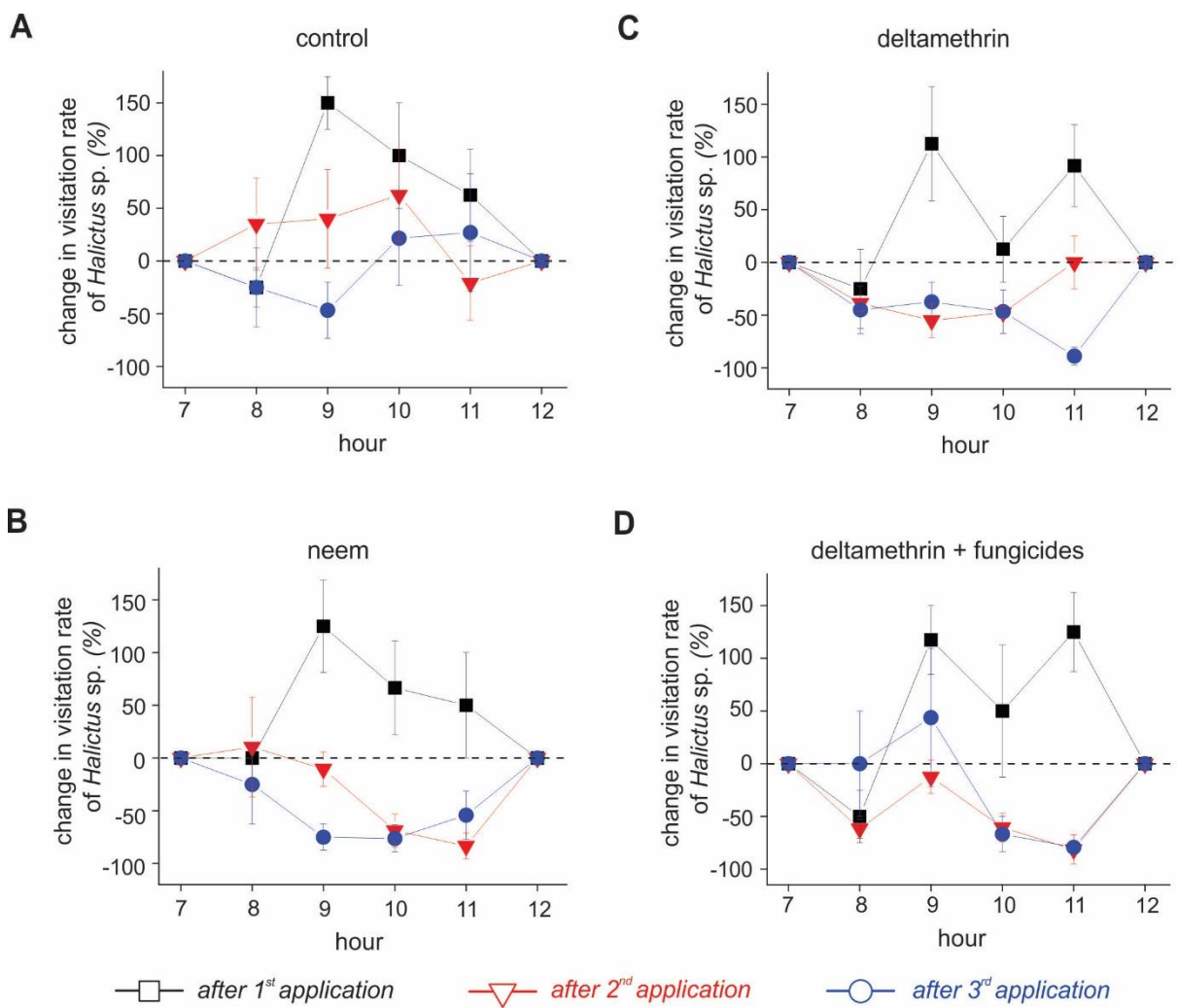


Figure 5

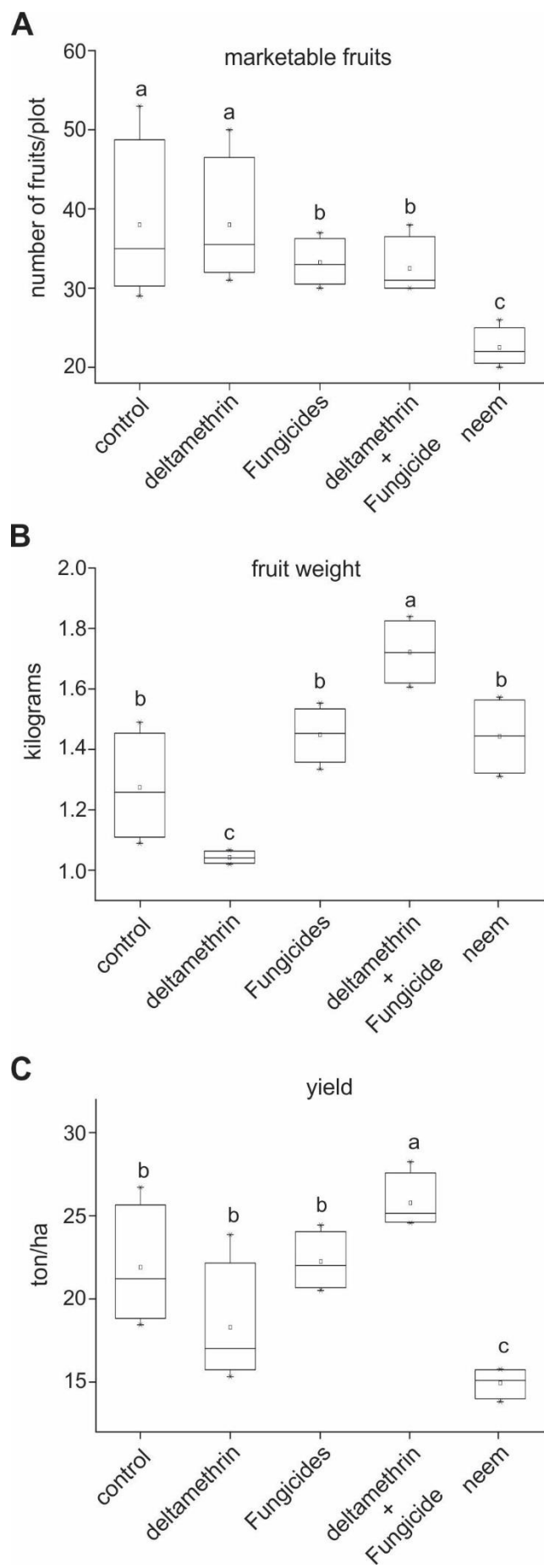


Figure 6

4 FATORES DETERMINANTES DA OCORRÊNCIA DO CRESTAMENTO GOMOSO DO MELOEIRO EM FUNÇÃO DA ÉPOCA DE PLANTIO NO CERRADO

Submetido a: *Pesquisa Agropecuária Brasileira*

Paulo Henrique Tschoeke^{a*}, Gil Rodrigues Santos^a, Eugênio E. Oliveira^{b*}, Ildon Rodrigues do Nascimento^a, Raimundo Wagner de Sousa Aguiar^a,

^a Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, 77410-530, Brasil

^bDepartamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-000, Brasil

Título resumido: Progresso do crestamento gomoso do meloeiro cultivado no Cerrado

Tabelas: 4

Figuras: 13

Páginas: 29

Autores correspondentes: Paulo Henrique Tschoeke

Campus Universitário de Gurupi

Universidade Federal do Tocantins

Gurupi, TO 77410-530

Tel. (55)(63) 3311-3577; Fax (55)(63) 3311-3501

Gil Rodrigues dos Santos

Campus Universitário de Gurupi

Universidade Federal do Tocantins

Gurupi, TO 77410-530

Tel. (55) (63) 3311-3569; Fax (55)(63) 3311-3501

RESUMO

A área cultivada da cultura do meloeiro, *Cucumis melo*, vem aumentando no Cerrado brasileiro. No Tocantins são verificados plantios na estação seca e na estação chuvosa, mas independente da estação climática, há ocorrência nessas áreas do crestamento gomoso do caule, *Didymella bryoniae*, a principal doença da cultura. Este trabalho foi proposto devido às perspectivas de incremento das áreas plantadas com meloeiro e a escassez de informações que abordem a influência da época de cultivo sobre o progresso temporal da doença nessa condição edafoclimática. Para tanto, foram conduzidos três ensaios em área de cerrado visando verificar o progresso temporal da doença de acordo com a época de cultivo: estação seca, estação chuvosa e período de transição entre elas. Nos dois primeiros ensaios foi utilizada uma cultivar de meloeiro: Eldorado 300, e quatro tratamentos utilizando: fungicida, inseticida ou a mistura destes. No terceiro ensaio foram utilizadas seis cultivares de meloeiro: Eldorado 300, Hibrix, Favo, Louro, Gaucho Redondo e Canarian, cultivadas com e sem a aplicação de pesticidas. Foi observada a incidência da doença nos caules e a severidade desta nas folhas a cada cinco dias a partir do 15º dia após a emergência das plântulas. Os menores valores de progresso temporal, tanto para incidência nos caules como para a severidade da doença nas folhas foram observados no cultivo realizado na estação seca. Não houve colheita de frutos nos cultivos da estação chuvosa e no período de transição entre estações devido à severidade da doença nas folhas e apodrecimento dos frutos. Os resultados obtidos sugerem que o cultivo de meloeiro em áreas de cerrado deva ser efetuado durante a estação seca, onde predominam condições climáticas favoráveis ao meloeiro e desfavoráveis ao patógeno.

Palavras chave: *Didymella bryoniae*; epidemiologia; *Cucumis melo*; Cerrado

ABSTRACT

Associated factors on incidence of gummy stem blight in the Brazilian Cerrado Cerrado

The area of cropping of muskmelon, *Cucumis melo*, has increased in the Brazilian Cerrado. In Tocantins state are checked plantations in the dry season and the rainy season, but regardless of the weather station, there occurrence in these areas, the gummy stem blight, *Didymella bryoniae*, the main disease of the crop. Considering the prospects of increase in areas planted with melon and the lack of studies that address the influence of sowing date on the temporal progress of the disease in edaphoclimatic condition is that we proposed this work. Thus, we conducted three tests in Cerrado in order to verify the temporal progress of the disease according to the growing season: dry season, rainy season and period of transition between them. In the first two trials was used a cultivar of muskmelon: Eldorado 300, and four treatments using fungicide, insecticide or mixture thereof. In the third test were selected six cultivars of muskmelon: Eldorado 300, Hibrix, Favo, Louro, Gaucho Redondo and Canarian, cultivated with and without the application of pesticides. The incidence of the disease was observed in stems and the severity of this leaves every five days from the 15th day after seedling emergence. The lower temporal progress values for both incidence stems as to the severity of the disease on the leaves were observed in the cultivation done in the dry season. There was no fruit harvest crops in the rainy season and during the transition period between stations due to the severity of the disease on the leaves and rotting fruit. The results suggest that the melon crops in cerrado areas should be done during the dry season, dominated climatic conditions favorable to the melon and unfavorable to the pathogen.

Keywords: *Didymella bryoniae*; epidemiology; *Cucumis melo*

1 INTRODUÇÃO

O meloeiro, *Cucumis melo* L., é a segunda fruteira tropical mais exportada do Brasil, sendo o semi-árido nordestino a principal região produtora, com cerca de 90% da área cultivada no país (IBGE 2014). Nos últimos anos esta olerícola vem aumentando os cultivos no Cerrado brasileiro (IBGE 2014), uma das mais importantes fronteiras agrícolas no mundo (Mittermeier et al. 2004, Maia et al. 2013).

Neste contexto, a implantação de plantios comerciais em novos ambientes depende do conhecimento das interações entre os agentes bióticos e abióticos que atuam nesses agroecossistemas. De posse dessas informações é possível propor estratégias de manejo que minimizem ou otimizem a influência desses agentes sobre as plantas, os quais podem vir a viabilizar ou não a exploração agrícola, devido aos níveis de produtividade e padrões de qualidade obtidos, bem como os impactos ambientais decorrentes dessas estratégias.

O estado do Tocantins possui características edafoclimáticas favoráveis ao cultivo do meloeiro, sendo observados cultivos na estação seca e na estação chuvosa, mas independente da época de cultivo ocorre a incidência do crestamento gomoso do caule nesses plantios (Santos et al. 2009c). O crestamento gomoso é a principal doença do meloeiro, sendo ocasionada pelo fungo *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm (anamorfo *Ascochyta cucumis* (Fautrey & Roum.) e descrito na França, Itália e Estados Unidos em 1891 (Chiu e Walker 1949, Keinath 1995). Encontra-se disseminada em todo mundo (Kothera et al. 2003, Keinath 2008, Santos et al. 2009b, Choi et al. 2010, Li et al. 2015), atacando caules, folhas e frutos de 12 gêneros e 24 espécies de cucurbitáceas cultivadas em campo aberto ou ambiente protegido (Keinath et al. 1995, Santos et al. 2005a, Babadoost e Zitter 2009, Keinath 2011, Keinath 2014a, Keinath 2014b). No Brasil, o meloeiro, *C. melo* e a melanciaira, *Citrullus lanatus* L., são os hospedeiros mais suscetíveis à doença (Santos et al. 2009b). Além dos danos a campo, a doença também afeta parâmetros de qualidade dos frutos de melão na pós-colheita, tais como o teor de sólidos solúveis totais e acidez titulável total (Concurso et al. 2012, Verzera et al. 2014).

O agente causal pode ser transmitido via sementes infectadas (Lee et al. 1984, Sudisha et al. 2006), ferramentas de poda (Vida et al. 2004) e sobrevive em

restos de cultura e no solo por longos períodos (Van Steekelenburg 1983, Keinath 2002, Keinath 2008). Injúrias nas plantas causadas por ferimentos ou insetos servem de porta de entrada para o patógeno (Bergstrom e Knavel 1982, Neergaard et al. 1993, Santos et al. 2005c).

A aplicação de fungicidas (Keinath 1995, Keinath 2001, Santos et al. 2005b, Thomas et al. 2012, Keinath 2013) é a forma de controle mais preconizada, embora a resistência genética (Henning et al. 2005, Dhillon et al. 2009, Keinath 2013, McCreight et al. 2013, Keinath 2014a) e outras práticas culturais tais como rotação de culturas (Santos et al. 2005c), manejo de adubação (Santos et al. 2009a, Santos et al. 2010, Santos et al. 2013a), irrigação (Santos et al. 2013a) entre outras, sejam utilizadas no manejo integrado da doença.

Os fatores climáticos, temperatura, pluviosidade e umidade do ar tem grande importância no processo infeccioso e na disseminação do patógeno na melancia e em outras cucurbitáceas (Van Steekelenburg 1985, Van Steekelenburg 1986, Arny e Rowe 1991, Santos et al. 2005c). Contudo, não foram encontrados trabalhos na literatura que abordem a influência desses fatores na epidemiologia do cretamento gomoso do meloeiro. Devido à lacuna de conhecimento sobre a influência da época de cultivo do meloeiro sobre a doença é que se propõe este trabalho. O objetivo desse trabalho foi verificar a influência da época de cultivo sobre o progresso temporal do cretamento gomoso do meloeiro cultivado em condições de cerrado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três ensaios em estações climáticas distintas: estação seca (ensaio I), estação chuvosa (ensaio II) e período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa (ensaio III), compreendendo os períodos de junho a setembro de 2013, janeiro a março de 2014 e agosto a outubro de 2014, respectivamente.

2.1 Ensaios I e II

Estes ensaios foram executados em área localizada no setor de olericultura da Universidade Federal do Tocantins – UFT, município de Gurupi, Estado do Tocantins, Brasil. Esta área está inserida no Bioma Cerrado nas coordenadas geográficas: latitude de 11°44'44.866"S e longitude de 49°3'8.968"O e altitude de

278 metros, possuindo histórico de plantio de meloeiro e epidemia natural de crestamento gomoso do caule. O solo é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (Santos et al. 2013b) e textura média.

Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é Aw, definido como tropical quente e úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A temperatura média anual está em torno de 26 °C, sendo a amplitude térmica média anual muito pequena, com temperatura média mensal mínima de 20 °C e média mensal máxima de 33 °C. A precipitação média anual é de 1.632 mm, registrando-se nos meses de outubro a março os maiores índices pluviométricos e, de abril a setembro, os menores (Samani e Hargreaves 1985).

O preparo inicial do solo foi realizado por meio de duas gradagens pesadas e uma gradagem niveladora, enquanto que, para o levantamento dos canteiros, foi utilizada uma enxada rotativa encanteiradora (0,70 m de largura na base superior, 0,90 m de largura na base inferior e altura de 0,30 m). Os canteiros foram protegidos com lona plástica dupla face (preta/branca) com espessura de 150 micrômetros, deixando-se exposta a face branca. A adubação de base foi feita utilizando-se 1000 kg ha⁻¹ da formulação 05-25-15 (Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brasil), dois litros de esterco curtido de curral por cova e aplicados em cada cova 60 g de uréia (Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brasil) e 60g de cloreto de potássio (Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Goiânia-GO, Brasil) aos 20 e 40 dias após o plantio, como adubação de cobertura. Foi utilizada irrigação localizada por gotejamento (3,6 L/hora) visando atingir a capacidade de campo e turno de rega fixo. Foram semeadas cinco sementes cova⁻¹ e realizado o desbaste de três plântulas aos 10 dias após a emergência – DAE.

Nestes ensaios, cada parcela experimental continha duas linhas (canteiros) de plantio. Em cada linha haviam cinco covas e duas plantas de meloeiro da cultivar Eldorado 300 (ISLA Sementes Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil) por cova. O espaçamento entre as plantas foi de 0,5 m, enquanto o espaçamento entre linhas foi de 1,5 m. O espaçamento entre parcelas foi de 5,0 m.

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, com quatro repetições e seis tratamentos. Os tratamentos aplicados estão descritos na Tabela 4.1.

Os tratamentos, baseados no costume local de manejo do crestamento gomoso, foram aplicados a cada sete dias, no final da tarde, utilizando-se pulverizador costal pressurizado a CO₂, com bico cônico e pressão constante ajustada para 4,84 libras/pol² e volume de calda ajustado para 200 l/ha.

Para avaliar a incidência do crestamento gomoso, as plantas foram monitoradas a cada cinco dias e contabilizado o número de caules com os sintomas da doença de acordo a metodologia utilizada por Santos et al. (2005a). Ao final das avaliações, os dados de incidência foram convertidos em Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), conforme método descrito por Shaner e Finney (1977).

Tabela 4.1 Tratamentos utilizados nos ensaios I e II. UFT, Gurupi, 2013/2014.

Tratamento	Especificação	Fabricante
T1	Água (controle)	-
T2	3g de Evidence 700 WG (imidacloprido [700 g i.a/L])/L	Bayer Cropscience Ltda, São Paulo – SP, Brasil
T3	0,3 ml de Decis 25CE (deltametrina [25 g i.a/L])/L	Bayer Cropscience Ltda, São Paulo – SP – Brasil
T4	2 g de Cerconil WP (mistura comercial de tiofanato metílico [200g i.a./kg] + clorotalonil [200g i.a./kg])/L	Iharabras Indústrias Químicas S.A, Sorocaba - SP, Brasil
T5	Mistura (T4 + T2)	-
T6	Mistura (T4 + T3)	-

Para avaliar a severidade da doença em relação ao tempo, as plantas foram avaliadas a cada cinco dias, utilizando-se escala de notas descrita por (Santos et al. 2005a) e (Sousa et al. 2014), onde: 0 – atribuída às plantas saudias; 1 – atribuída às plantas com menos de 1% da área foliar afetada; 3 – atribuída às plantas entre 1 e 5% da área foliar afetada; 5 – atribuída às plantas entre 6 e 25% da área foliar afetada; 7 – atribuída às plantas entre 26 e 50% da área foliar afetada; 9 – atribuída às plantas com mais que 50% da área foliar afetada. Posteriormente as notas atribuídas à doença nas folhas foram convertidas para porcentagens de área foliar doente pelo ponto médio de cada nota. O número de avaliações de cada ensaio foi de acordo com o início do surgimento da doença. Ao final das avaliações os dados

de severidade foram convertidos em Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), conforme método descrito por Shaner e Finney (1977).

A variáveis observadas foram submetidas à análise de variância, seguida de teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Institute 2008).

Para avaliar a produtividade, todos os frutos comerciais (maduros e com massa superior a 0,5 kg) foram colhidos e pesados com balança digital (20 kg x 5 g). Os dados de produtividade foram submetidos à análise de variância, seguida de teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Institute 2008).

2.2 Ensaio III

Este ensaio foi executado na mesma área onde foram executados os ensaios I e II, sendo que o preparo do solo, adubação, irrigação e tratos culturais foram similares aos empregados nesses ensaios. Para o controle das pragas foram utilizados pesticidas de acordo com o costume local de manejo de pragas e doenças do meloeiro: 3 g de Evidence 700 WG (imidacloprido [700 g i.a/L])/L e 0,3 ml de Decis 25CE (deltametrina [25 g i.a/L])/L, fabricados por Bayer Cropscience Ltda, São Paulo – SP, Brasil. Para o controle das doenças foram utilizados 2 g de Cerconil WP (mistura comercial de tiofanato metílico [200 g i.a./kg] + clorotalonil [200 g i.a./kg])/L fabricado por Iharabras Indústrias Químicas S.A, Sorocaba - SP, Brasil. Os pesticidas foram aplicados em apenas uma linha de cada parcela, a cada sete dias, no final da tarde, utilizando-se pulverizador costal pressurizado a CO₂, com bico cônico e pressão constante ajustada para 4,84 libras/pol² e volume de calda ajustado para 200 l/ha. Durante as aplicações foi utilizada uma lona plástica de 1,5 m de altura entre as linhas de plantio de cada parcela com o intuito de evitar interferência dos pesticidas na linha que receberia apenas aplicação de água.

Cada parcela experimental continha duas linhas (canteiro) de plantio, cada uma com três covas e uma planta de meloeiro. O espaçamento entre as plantas foi de 0,5 m, enquanto o espaçamento entre linhas foi de 1,5 m. O espaçamento entre parcelas foi de 5,0 m.

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados com quatro repetições (blocos) e seis tratamentos (cultivares de meloeiro). Com exceção da

cultivar Hibrix (Nunhems do Brasil Comércio de Sementes Ltda., Campinas, SP; Brasil), as outras cultivares (Canarian, Gaúcho Redondo, Louro, Favo e Eldorado 300) foram adquiridas de Isla Sementes (Isla Sementes Ltda., Porto Alegre, RS; Brasil).

Neste ensaio foi realizada apenas a avaliação da severidade da doença nas folhas em relação ao tempo, de acordo com a metodologia descrita nos ensaios I e II.

A variável observada foi submetida à análise de variância, seguida de teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Institute 2008).

3 RESULTADOS

3.1 Ensaio I – Estação seca

Os dados de temperatura e precipitação do cultivo na estação seca são apresentados na Figura 4.1 pela média do período de cinco dias que antecedeu cada avaliação de incidência e severidade do crestamento gomoso. As médias da temperatura variaram de 17,9 °C (temperatura mínima) a 34,7 °C (temperatura máxima). A precipitação ocorreu um dia antes da avaliação final do ensaio, contabilizando 3,8 mm.

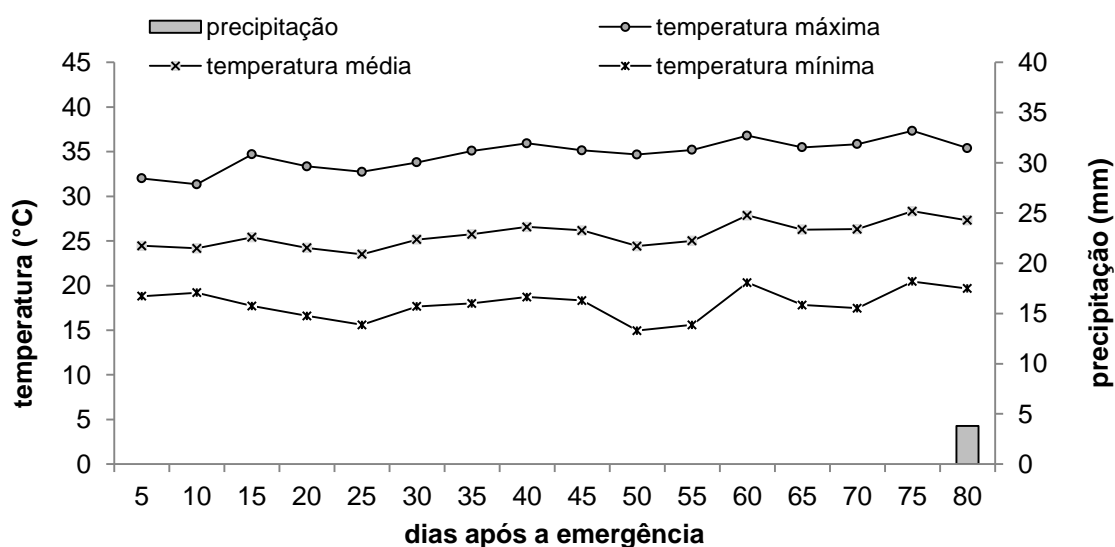


Figura 4.1 Variáveis climáticas registradas durante o cultivo do meloeiro na estação seca. UFT, Gurupi, 2013.

A umidade relativa do ar variou de 30,7% (mínima) a 61% (máxima). O ciclo do meloeiro na estação seca foi de 80 dias, mas independente do tratamento utilizado foram observados caules apresentando sintomas do crestamento gomoso aos 20 dias após a emergência (Figura 4.2).

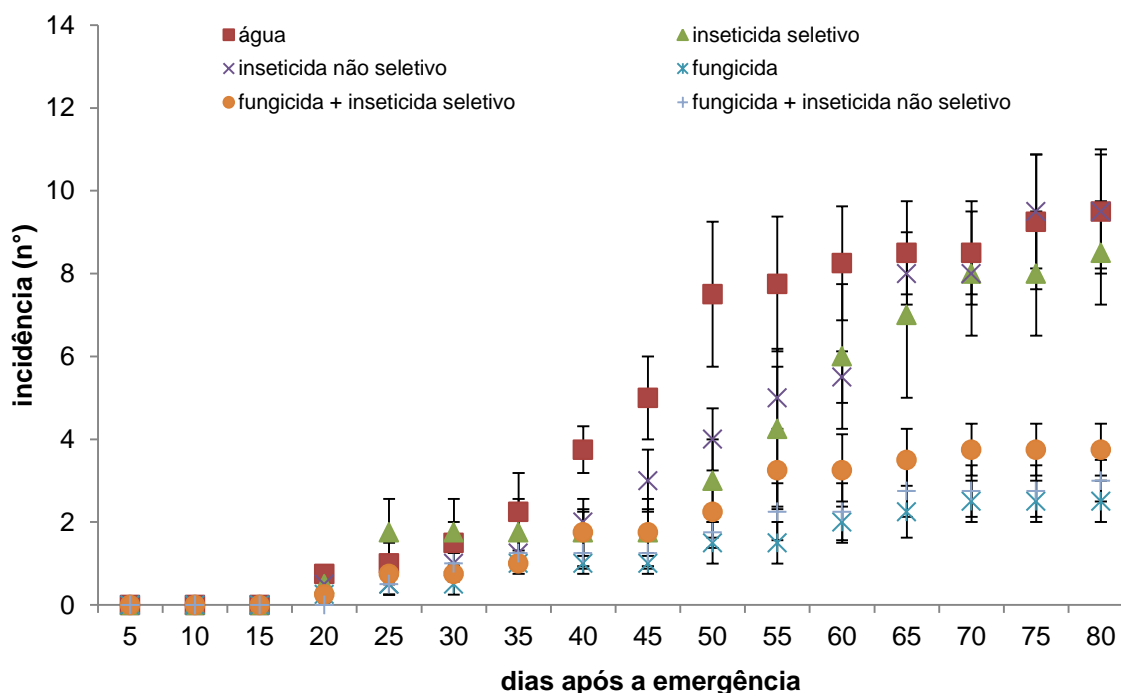


Figura 4.2 Progresso temporal da incidência do crestamento gomoso nos caules de meloeiro cultivado na estação seca e submetido a seis tratamentos com aplicação de fungicida e inseticidas. UFT, Gurupi, 2013.

Foram observadas diferenças significativas para a incidência da doença entre caules de meloeiro cultivado sem aplicação (T1, T2 e T3) e com aplicação de fungicida (T4, T5 e T6), conforme Tabela 4.2 e Figura 4.2.

Foi observado efeito significativo do tempo e da interação tempo vs tratamento na incidência do crestamento gomoso ao longo do período de observação (Tabela 4.2, Figura 4.2).

Aos 40 DAE ocorreu incremento significativo da incidência da doença nos tratamentos sem a utilização de fungicidas (T1, T2 e T3). Foi atingida, no final do

ciclo da cultura, uma média de 9,2 plantas infectadas (46%) por tratamento sem a utilização de fungicida. Por outro lado, nos tratamentos com a utilização de fungicida (T4, T5 e T6), o progresso da doença permaneceu estável até a colheita, com uma média de 3,1 plantas infectadas (15,5%) no final do ciclo.

Tabela 4.2 Resumo da análise de variância para a incidência do crestamento gomoso em caules de meloeiro cultivado sob seis tratamentos com pesticidas. UFT, Gurupi, 2013/2014

Fontes de Variação	Estação seca			Estação chuvosa		
	GL	F	P	GL	F	P
<i>Entre amostras</i>						
Tratamentos (TR)	5	3,19	0,0309*	5	0,27	0,92
Erro	18	-	-	18	-	-
	gl_{den}/gl_{num}	Wilks' lambda	F_{aprox} P	gl_{den}/gl_{num}	Wilks' lambda	F_{aprox} P
<i>Dentro das amostras</i>						
Tempo (T)	8/11	0,0527	59,02 <0,0001*	9/10	0,0057	141,45 <0,0001*
T x TR	40,62/55	0,0062	3,06 <0,0001*	47,84/45	0,0258	0,41 0,96

* Significativo $P < 0,05$.

A redução da doença decorrente da aplicação do fungicida com relação à testemunha (T1) variou entre 73,68% para T4, 60,0% para T5 e 68,42% para T6, sendo esses os três tratamentos com aplicação de fungicida.

Os resultados observados para a AACPD da incidência mostram que nos tratamentos onde foram aplicados apenas inseticidas (T2 e T3), houve um maior número de plantas com a presença do crestamento gomoso no caule. Estes tratamentos apresentaram valores de AACPD superiores a 135, não diferindo estatisticamente do tratamento controle (T1) e dos tratamentos contendo a mistura de fungicida e inseticida (T5 e T6), conforme a Figura 4.3.

O tratamento que proporcionou o maior controle da doença foi o T4 com a utilização isolada de fungicida, com valor de AACPD de 47,50, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Foram observadas diferenças significativas para a severidade do crestamento gomoso nas folhas de meloeiro cultivado sob os seis tratamentos de pesticidas (Tabela 4.3). Foi observado efeito significativo do tempo e da interação tempo vs tratamento na severidade da doença ao longo do período de observação (Tabela 4.3, Figura 4.4).

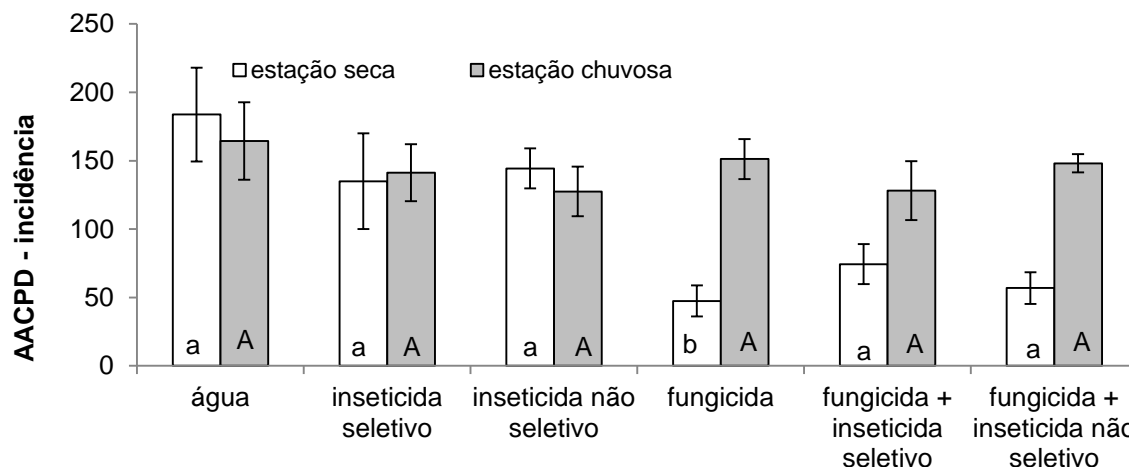


Figura 4.3 Incidência do crestamento gomoso em caules de meloeiro expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença, nas duas estações de cultivo. UFT, Gurupi, 2013/2014. Tratamentos com letras minúsculas iguais dentro da estação seca não apresentam diferenças significativas entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Tratamentos com letras maiúsculas iguais dentro da estação chuvosa não apresentam diferenças significativas entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 4.3 Resumo da análise de variância para a severidade do crestamento gomoso em folhas de meloeiro cultivado sob seis tratamentos com pesticidas. UFT, Gurupi, 2013/2014

Fontes de Variação	Estação seca			Estação chuvosa				
	GL	F	P	GL	F	P		
<i>Entre amostras</i>								
Tratamentos (TR)	5	19,47	<0,0001*	5	0,40	0,84		
Erro	18	-	-	18	-	-		
	gl_{den}/gl_{num}	Wilks' lambda	F_{aprox}	P	gl_{den}/gl_{num}	Wilks' lambda	F_{aprox}	P

Dentro das amostras

Tempo (T)	13/6	0,0069	314,82	<0,0001*	15/4	0,0037	1119,2	<0,0001*
T x TR	54/30	0,0500	3,13	<0,0001*	44,57/15	0,3856	0,77	0,85

* Significativo P < 0,05.

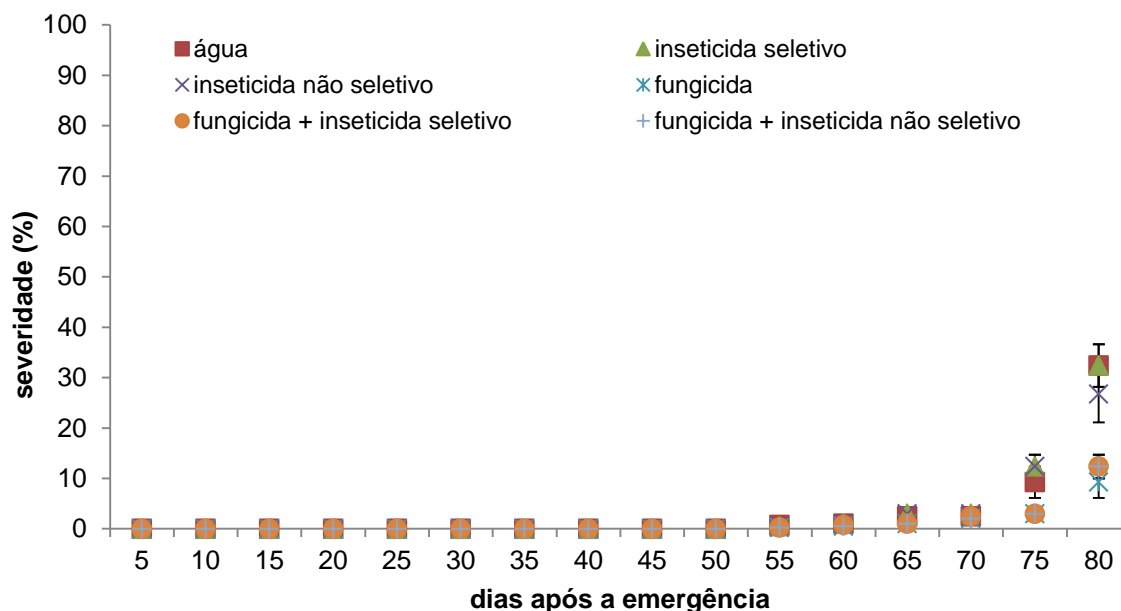


Figura 4.4 Progresso temporal do cretamento gomoso nas folhas de meloeiro cultivado na estação seca. UFT, Gurupi, 2013.

Foi verificada a severidade da doença nas folhas no terço final do ciclo da cultura, em torno dos 65 DAE, conforme Figura 4.4. Ocorreu incremento significativo da doença nos tratamentos sem a utilização de fungicidas (T1, T2 e T3) aos 75 DAE, com um máximo de 32,3% de tecido foliar afetado nos tratamentos T1 e T2. Os tratamentos com uso de fungicidas retardaram o desenvolvimento da epidemia, proporcionando uma menor área foliar afetada, com uma média de 11,33% de tecido foliar afetado pela doença aos 80 DAE.

Os resultados observados para a AACPD da severidade mostram que nos tratamentos onde foram aplicados apenas inseticidas (T2 e T3), houve uma maior quantidade de tecido foliar afetado pelo cretamento gomoso. Estes tratamentos apresentaram valores de AACPD superiores a 43 não diferindo estatisticamente do tratamento controle (T1), conforme a Figura 4.5. O tratamento que proporcionou o maior controle da doença foi o T4 com a utilização de fungicida, seguido dos

tratamentos contendo a mistura de fungicida e inseticida (T5 e T6), com valores de AACPD de 26,88, 30,00 e 28,13, respectivamente.

Em relação à produtividade (Figura 4.6), pode-se verificar que os tratamentos com aplicação semanal de fungicida apresentaram maior nível de produtividade, entretanto, não diferindo significativamente dos tratamentos sem aplicação de fungicida.

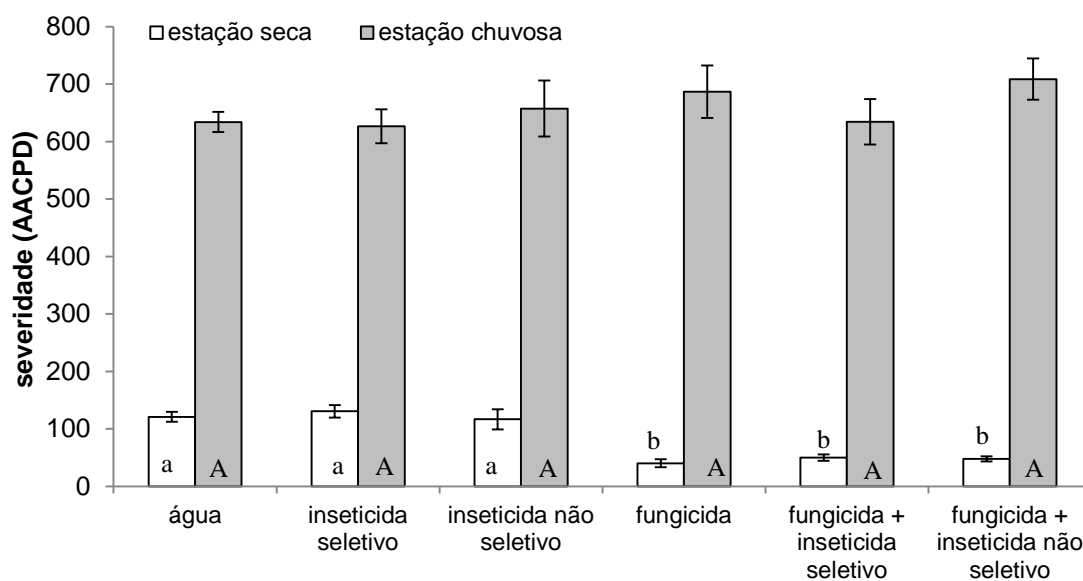


Figura 4.5 AACPD da severidade do crestamento gomoso em caules de meloeiro nas duas estações de cultivo e submetido a seis tratamentos com aplicação de fungicida e inseticidas. UFT, Gurupi, 2013/2014. Letras minúsculas iguais dentro da estação seca não apresentam diferenças significativas entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas iguais dentro da estação chuvosa não apresentam diferenças significativas entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

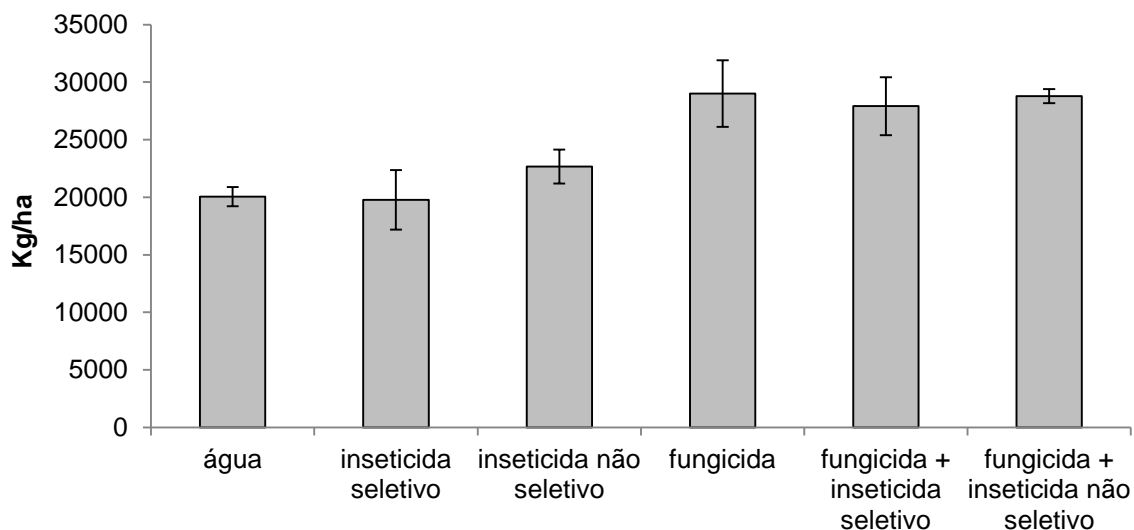


Figura 4.6 Produtividade de meloeiro Eldorado 300 na estação seca. UFT, Gurupi, 2013. Os tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.

3.2 Ensaio II – Estação chuvosa

Os dados de temperatura e precipitação do cultivo na estação chuvosa são apresentados pela média do período de cinco dias que antecedeu cada avaliação de incidência e severidade do crestamento gomoso, conforme Figura 4.7. As médias da temperatura variaram de 22,0 °C (mínima) a 30,6 °C (máxima). A chuva foi registrada durante todo o período de cultivo com uma média de precipitação acumulada de 42,1 mm a cada cinco dias ou 8,42 mm por dia. A umidade relativa do ar variou de 63,7% (mínima) a 95,6% (máxima).

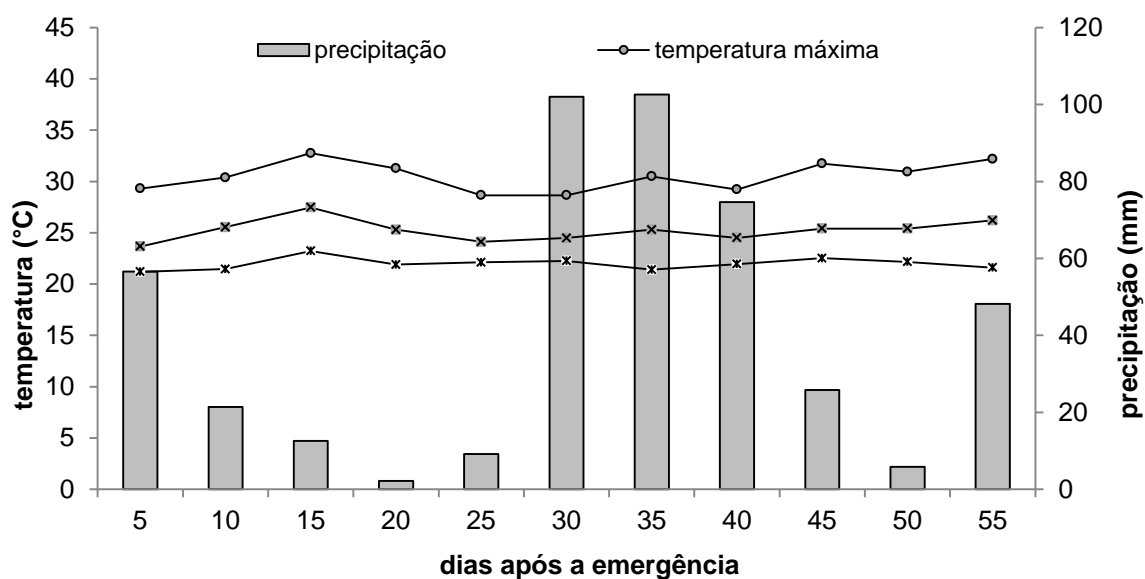


Figura 4.7 Variáveis climáticas registradas durante o cultivo do meloeiro na estação chuvosa. UFT, Gurupi, 2014.

A ciclo do meloeiro na estação chuvosa foi interrompido 20 dias antes do previsto, ou seja, aos 60 DAE. Independente do tratamento utilizado foram observados caules de meloeiro apresentando sintomas do crestamento gomoso aos 15 DAE (Figura 4.8).

Não foram observadas diferenças significativas na incidência da doença em caules de meloeiro cultivado sob seis tratamentos de pesticidas na estação chuvosa (Tabela 4.2), embora efeito significativo do tempo tenha sido observado no número de caules infectados (Tabela 4.2, Fig. 4.8).

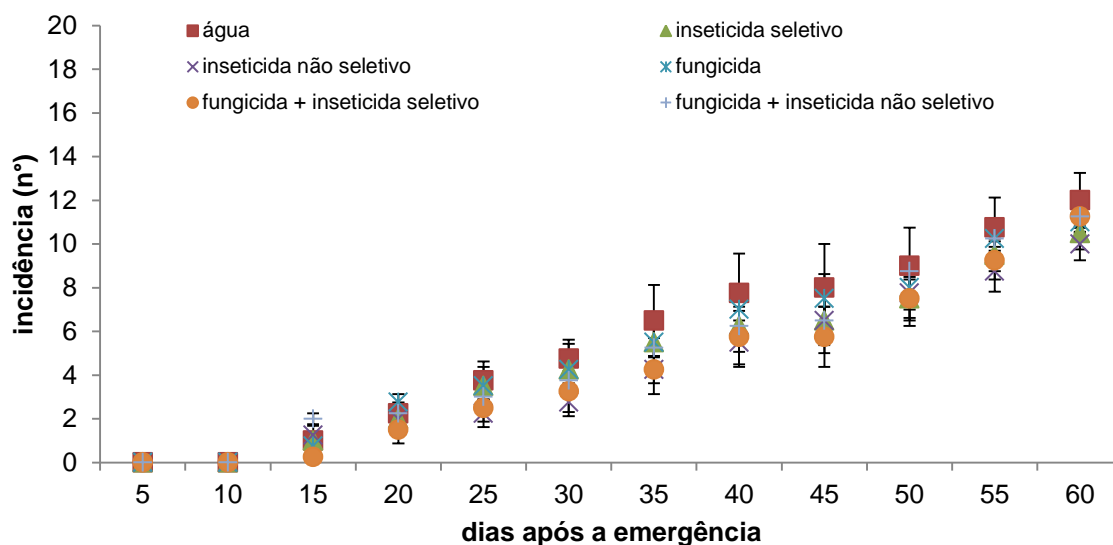


Figura 4.8 Progresso temporal da incidência do crestamento gomoso nos caules de meloeiro cultivado na estação chuvosa e submetido a seis tratamentos com aplicação de pesticidas. UFT, Gurupi, 2014.

Os resultados observados para a AACPD da incidência da doença no período chuvoso foram superiores a 125, conforme Figura 4.3. Entretanto não foi observada diferença significativa entre tratamentos. Ocorreu aumento gradativo da incidência ao longo do ciclo da cultura, com uma média de 11 plantas com sintomas no caule por tratamento, ao fim desse período.

Não foram observadas diferenças significativas na severidade do crestamento gomoso nas folhas de meloeiro cultivado sob os seis tratamentos de pesticidas (Tabela 4.3). Foi observado efeito significativo do tempo na severidade de doença ao longo do período de observação (Tabela 4.3, Figura 4.9).

Para a severidade da doença nas folhas do meloeiro, a AACPD observada em todos os tratamentos foi superior a 625, conforme a Figura 4.5, evidenciando que a utilização de fungicidas na estação chuvosa não surtiu efeito no controle do patógeno. Os primeiros sintomas nas folhas foram observados em torno dos 35 DAE, com todos os tratamentos apresentando uma média de 3% de tecido foliar afetado, de acordo com a Figura 4.9. Aos 60 DAE foi observado que todos os tratamentos atingiram o máximo de tecido foliar afetado, que é de 75%, o que ocasionou a morte das plantas do meloeiro 20 dias antes do término do ciclo normal

do meloeiro e impossibilitando a colheita de frutos que apodreceram precocemente devido à doença.

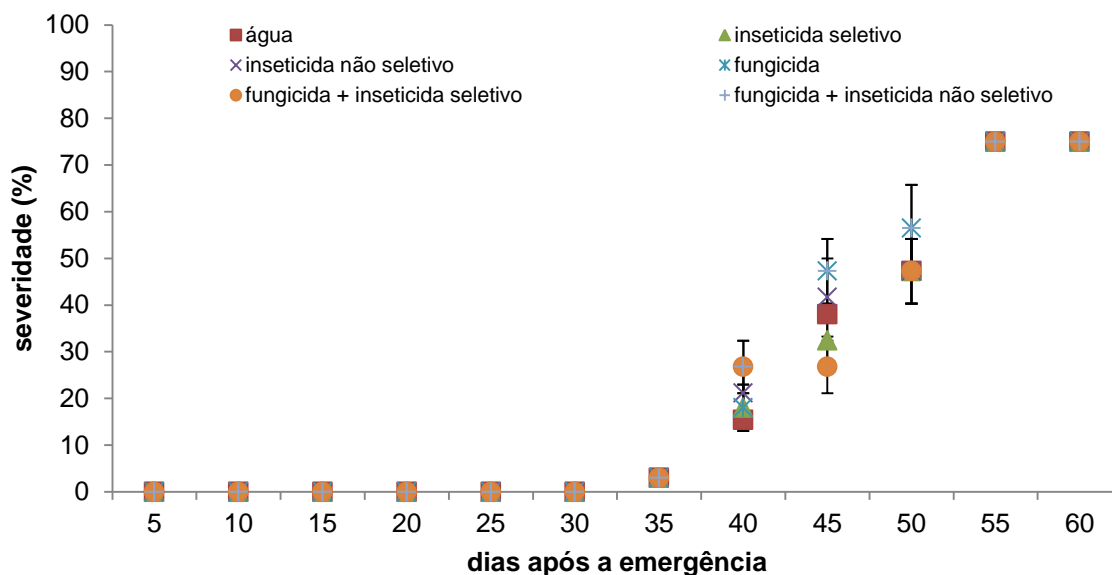
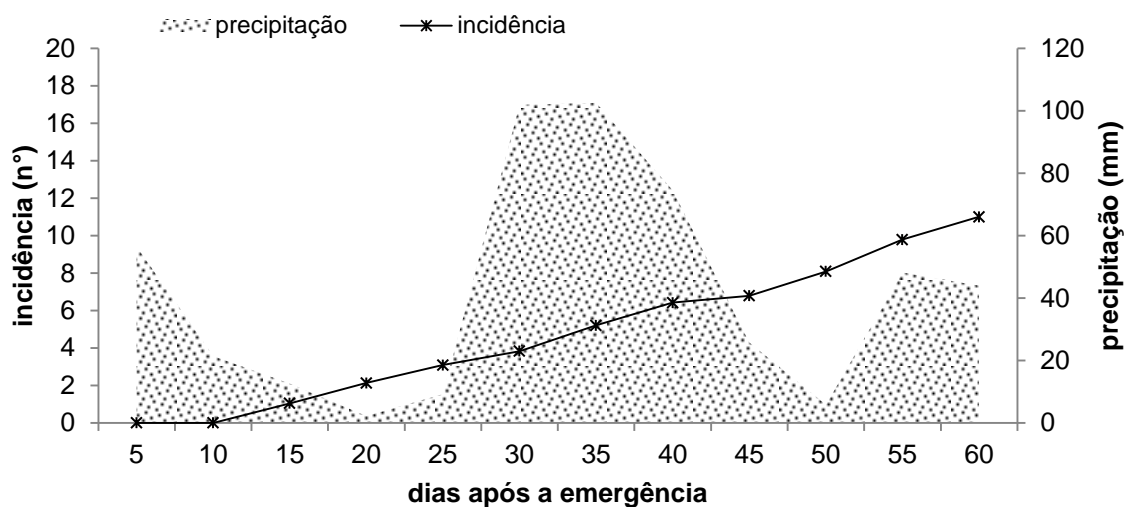


Figura 4.9 Progresso temporal da severidade do cretamento gomoso nas folhas de meloeiro cultivado na estação chuvosa e submetido a seis tratamentos com aplicação de pesticidas. UFT, Gurupi, 2014.

Comparando a evolução da incidência da doença nos caules com os dados pluviométricos, percebe-se que a precipitação nos primeiros 10 DAE favoreceu a disseminação do inóculo primário (Figura 4.10A). Por outro lado, a evolução da severidade da doença nas folhas foi influenciada pelos maiores volumes de precipitação registrados a partir dos 30 DAE (Figura 4.10B).

(A)



(B)

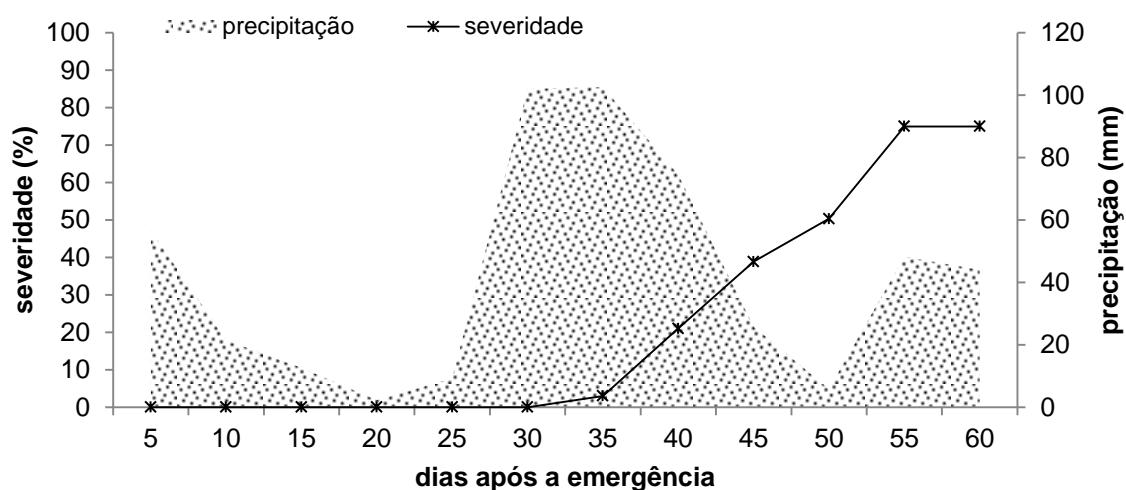


Figura 4.10 Comparação da incidência média em caules (A) e severidade média em folhas (B) do crestamento gomoso vs precipitação, em meloeiro cultivado na estação chuvosa. UFT, Gurupi, 2014.

3.3 Ensaio III – Período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa

Os dados de temperatura e precipitação do cultivo no período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa são apresentados pela média do período de cinco dias que antecedeu cada avaliação de severidade do crestamento gomoso, conforme Figura 4.11. As médias da temperatura variaram de 21,0 °C (mínima) a

35,5 °C (máxima). A precipitação média acumulada foi de 13,5 mm a cada cinco dias ou 2,7 mm por dia. A umidade relativa do ar variou de 40,9% (mínima) a 85,7% (máxima).

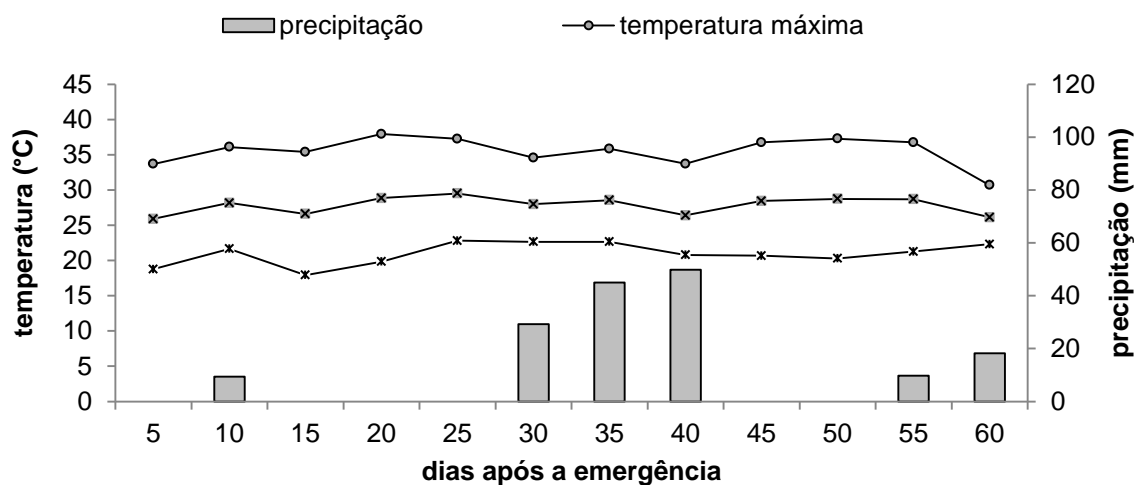


Figura 4.11 Variáveis climáticas registradas durante o cultivo do meloeiro no período de transição entre as estações seca e chuvosa. UFT, Gurupi, 2014.

Semelhante ao observado no ensaio de cultivo na estação chuvosa, o ciclo das seis cultivares e meloeiro utilizadas neste ensaio foi interrompido em torno de 20 dias antes do previsto, ou seja, aos 60 DAE.

Foram observadas diferenças significativas na severidade do crestamento gomoso nas folhas das seis cultivares de meloeiro cultivadas com e sem a aplicação de pesticidas (Tabela 4.4).

Quando comparada cada cultivar isoladamente, com e sem a aplicação de pesticidas, verifica-se que para a severidade da doença nas folhas de meloeiro, a aplicação de pesticidas proporcionou a diminuição da AACPD nas cultivares Eldorado 300, Hibrix, Louro e Canarian. Contudo, mesmo com essa diminuição, os valores encontrados foram superiores a 361,88, conforme a Figura 4.13, evidenciando que a utilização de pesticidas na época de transição entre a estação seca e estação chuvosa não surtiu efeito no controle do patógeno. Quando comparadas as cultivares entre si, dentro de cada regime de aplicação, verifica-se que a cultivar Eldorado 300 diferiu significativamente das demais cultivares, apresentando a maior AACPD (845, sem aplicação de pesticidas e 636,88, com

aplicação de pesticidas), enquanto a cultivar Gaúcho Redondo também diferiu significativamente, apresentando, contudo, a menor AACPD (369,38, sem aplicação de pesticidas e 321,88, com aplicação de pesticidas), conforme Figura 4.13. Independente da cultivar de meloeiro observada e da aplicação de pesticidas, os primeiros sintomas de do crestamento gomoso nas folhas foram observados em torno dos 30 DAE, com 1 a 3% de tecido foliar afetado, de acordo com a Figura 4.12. Aos 60 DAE foi observado que todos os tratamentos (cultivares) atingiram o máximo de tecido foliar afetado. Tal fato implicou na morte prematura das plantas, inviabilizando a colheita de frutos que apodreceram devido a doença.

Tabela 4.4 Resumo da análise de variância para a severidade do crestamento gomoso em folhas de seis cultivares meloeiro cultivado com e sem a aplicação de pesticidas. UFT, Gurupi, 2014.

Fontes de variação	GL		F	P
<i>Entre amostras</i>				
Aplicações (A)	1		25,79	<0,0001*
Cultivar (C)	5		18,99	<0,0001*
A x C	5		1,06	0,4
Erro	36	-	-	
	gl_{den}/gl_{num}	Wilks' lambda	F_{approx}	P
<i>Dentro das amostras</i>				
Tempo (T)	30/71	0,0016	395,9	<0,0001*
T x A	3071	0,1837	16,5	<0,0001*
T x C	128/35	0,0184	6,3	<0,0001*
T x A x C	128/35	0,151	3,1	<0,0001*

* Significativo $P < 0,05$.

Foi observado efeito significativo do tempo e das interações tempo vs aplicações de pesticidas; tempo vs cultivar; tempo vs aplicações de pesticidas vs cultivar (Tabela 4.4, Figura 4.12).

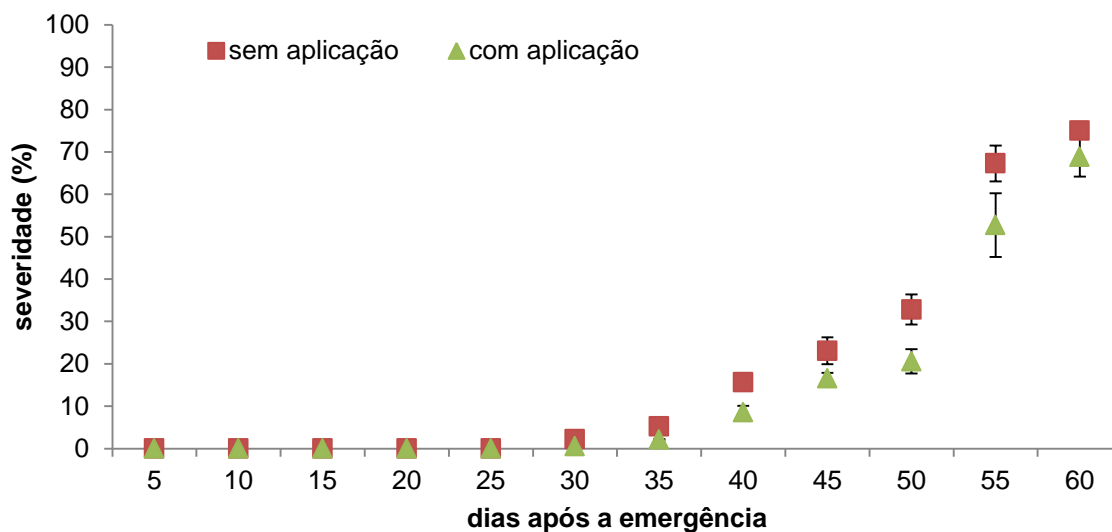


Figura 4.12 Progresso temporal da severidade do crestamento gomoso nas folhas de meloeiro cultivado no período de transição das estações seca e chuvosa. UFT, Gurupi, 2014

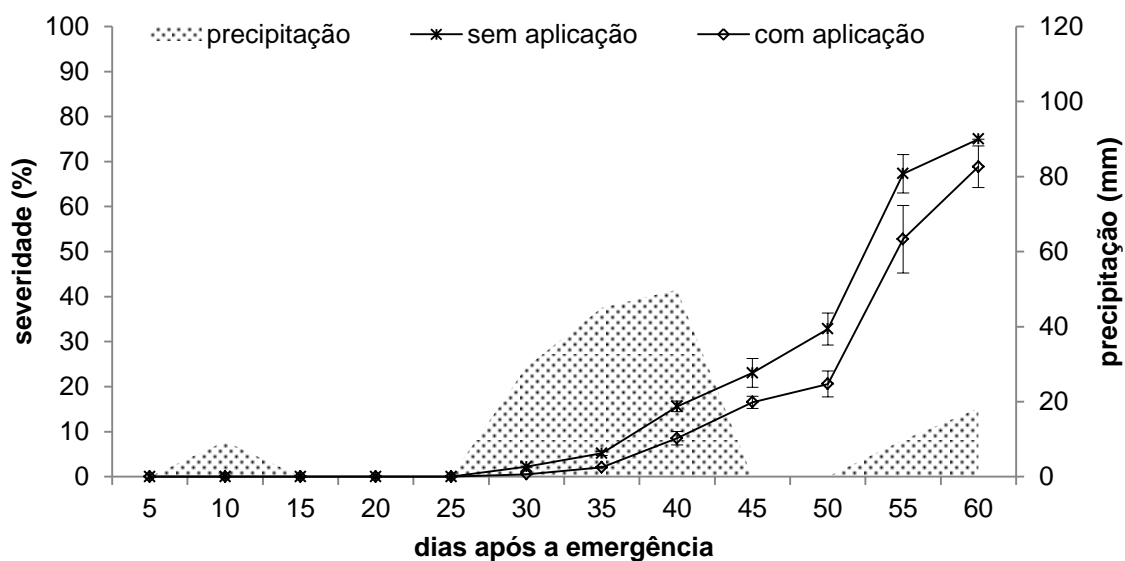


Figura 4.13 Comparação da severidade média do crestamento gomoso em folhas de meloeiro cultivado no período de transição das estações seca e chuvosa, vs precipitação. UFT, Gurupi, 2014.

4 DISCUSSÃO

O conhecimento da época mais favorável ao cultivo de uma determinada cultura agrícola é uma das condições primordiais que devem ser observadas para garantir retorno do investimento efetuado. As condições climáticas podem ter efeito direto na suscetibilidade das plantas ao ataque de fitopatógenos. Os fitopatógenos, por sua vez, tendem a obter êxito na sua reprodução e disseminação se a lavoura for suscetível e as condições climáticas forem ideais.

Foi demonstrado que a severidade do crestamento gomoso teve sua intensidade aumentada quando o meloeiro foi cultivado na estação chuvosa e no período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa em condições de cerrado. Isto ocorreu a partir dos 40 DAE em todos os tratamentos nestas duas épocas de cultivo, conforme Figura 4.9 e Figura 4.12. Nesse estágio de desenvolvimento a planta de melão apresenta ramos e folhas em abundância, o que favorece um maior período de molhamento foliar e conseqüentemente condições ideais para que o patógeno cause a infecção nas folhas. Em melancia, *Citrullus lanatus*, o maior progresso temporal da doença foi observado aos 50 DAP (Keinath 1995) e aos 52 DAP (Santos et al. 2005b). Em folhas de cucurbitáceas, o período ideal de molhamento foliar para que ocorra a infecção pelo fungo *D. bryoniae* é de aproximadamente 60 minutos. Contudo, um período mais prolongado de molhamento é necessário para que ocorra a expansão da lesão nas folhas (Van Steekelenburg 1985, Van Steekelenburg 1986, Arny e Rowe 1991). Essa tendência pode ser observada na Figura 4.10B e Figura 4.14. Até os 35 DAE os esporos de *D. bryoniae* tiveram condições ideais para causar a infecção e a partir desse momento, a manutenção da umidade relativa do ar decorrente da precipitação favoreceu a expansão exponencial das lesões nas folhas. O fungo se desenvolve em uma faixa de temperatura que varia de 20 a 28 °C, com um ótimo a 24 °C (Chiu e Walker 1949, Van Steekelenburg 1982, Arny e Rowe 1991). Embora a temperatura média observada nos três cultivos esteja dentro desta faixa, 25,6 °C na estação seca (Figura 4.1), 25,2 °C na estação chuvosa (Figura 4.7) e 27,8 °C no período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa (Figura 4.11), o maior progresso da doença foi observado nos dois cultivos onde ocorreu molhamento foliar decorrente de precipitações. Svedelius (1990) e Arny e Rowe (1991) verificaram que a umidade relativa do ar e a duração do molhamento foliar tem maior

importância na infecção de folhas e ramos do que a temperatura. A umidade do ar média durante os cultivos foi de 62% na estação seca, 85% na estação chuvosa e 61,7% no período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa. Folhas de pepino, *Cucumis sativus*, são raramente infectadas quanto a umidade do ar está por volta de 65%, sendo frequentemente infectadas em 95% de UR e severamente infectadas quando permanecem úmidas ao longo do tempo (Van Steekelenburg 1985).

Na estação chuvosa e no período de transição entre a estação seca e estação chuvosa, o fungicida utilizado não surtiu efeito no controle da doença nas folhas. Por outro lado, na estação seca, os tratamentos com a utilização de fungicida tiveram maior nível de controle da doença nas folhas, com aumento da intensidade da severidade apenas no fim do ciclo da cultura (75 DAE), conforme Figura 4.4. Estes resultados obtidos na ausência de precipitação corroboram com Santos et al. (2005b) que demonstram a eficiência da mistura de tiofanato metílico + clorotalonil, para o controle do crestamento gomoso do caule, na cultura da melancia na estação seca.

Embora a incidência da doença no caule do meloeiro tenha sido maior na estação chuvosa, a aplicação de fungicida, de um modo geral, não proporcionou diferença significativa no controle da doença em cada época de cultivo. De acordo com Santos et al. (2005b), em melancia a entrada do patógeno no caule da planta é favorecida pelos ferimentos provocados durante as operações de capinas ou pelo atrito com solo durante o crescimento da planta. Em nosso estudo foi utilizado *mulching* para o controle das ervas daninhas. Contudo, a utilização desta técnica pode ter formado um microclima que favoreceu a manutenção do patógeno próximo ao caule da planta de meloeiro.

Alguns estudos mostram que restos de cultura podem ser responsáveis pelo início da epidemia de *D. bryoniae* em cucurbitáceas (Van Steekelenburg 1983, Keinath 2002, Kurozawa et al. 2005). Neste estudo, independente da época de cultivo, a doença crestamento gomoso surgiu no início do ciclo vegetativo das plantas de meloeiro. O inóculo inicial presente no solo e em restos culturais foi responsável pela incidência da doença no caule nas duas épocas de plantio, entretanto a umidade relativa do ar, superior na estação chuvosa, associada à temperatura, favoreceu a maior incidência da doença nesta época de cultivo.

O inóculo primário presente nos caules, por sua vez, serviu como fonte de inóculo secundário para as infecções nas folhas. As lesões nas folhas aparecem de três a setes dias após a inoculação (Van Steekelenburg 1983). Os fatores abióticos que favorecem a dispersão dos esporos de *D. bryoniae* são as gotas ou respingos de chuva à curta distância e o vento à longa distância (Kurozawa et al. 2005). Na estação chuvosa e no período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa, o grande volume de precipitação verificado a partir dos 30 DAE nestas duas épocas de cultivo, favoreceu o aumento exponencial da doença nas folhas, verificado pela maior severidade da doença o que resultou na morte das plantas aos 60 DAE. Na estação seca praticamente não houve precipitação, desta forma justificando a baixa porcentagem de tecido foliar afetado pela doença.

Na estação seca a maior produtividade foi observada nos tratamentos que utilizaram fungicida devido ao maior controle da doença nas folhas. Contudo, o mesmo não ocorreu na estação chuvosa e no período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa. Nestas épocas de cultivo não foi possível realizar a colheita, pois as plantas não completaram o ciclo, devido a ineficácia do controle fúngico o que acarretou na intensidade da severidade da doença nas folhas. Isso demonstra a limitação imposta pelas condições climáticas durante a estação chuvosa para o cultivo de meloeiro no cerrado.

O atual modelo de manejo do cretamento gomoso do meloeiro cultivado no cerrado é eficaz na estação seca, não sendo recomendado o plantio desta cultura na estação chuvosa ou em períodos de transição entre estas duas estações climáticas.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Secretaria do Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Inovação do Estado do Tocantins, CAPES, CNPq e FAPEMIG.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNY, C. ; ROWE, R. Effects of temperature and duration of surface wetness on spore production and infection of cucumbers by *Didymella bryoniae*. *Phytopathology*, v.81, n.2, p.206-209, 1991.

BABADOOST, M. ; ZITTER, T. A. Fruit rots of pumpkin: A serious threat to the pumpkin industry. **Plant Disease**, v.93, n.8, p.772-782, 2009.

BERGSTROM, G. ; KNAVEL, D. Role of insect injury and powdery mildew in the epidemiology of the gummy stem blight disease of cucurbits. **Plant Disease**, v.66, n.8, p.683-686, 1982.

CHIU, W. ; WALKER, J. Physiology and pathogenicity of the cucurbit black rot fungus. **Journal of Agricultural Research**, v.78, n.12, p.589-615, 1949.

CHOI, I. Y.; CHOI, J. N.; CHOI, D. C.; SHARMA, P. K. ; LEE, W. H. Identification and characterization of the causal organism of gummy stem blight in the muskmelon (*Cucumis melo* L.). **Mycobiology**, v.38, n.3, p.166-170, 2010.

CONDURSO, C.; VERZERA, A.; DIMA, G.; TRIPODI, G.; CRINÒ, P.; PARATORE, A. ; ROMANO, D. Effects of different rootstocks on aroma volatile compounds and carotenoid content of melon fruits. **Scientia Horticulturae**, v.148, n.0, p.9-16, 2012.

DHILLON, N. P. S.; SINGH, J.; FERGANY, M.; MONFORTE, A. J. ; SUREJA, A. K. Phenotypic and molecular diversity among landraces of snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*) adapted to the hot and humid tropics of eastern India. **Plant Genetic Resources**, v.7, n.03, p.291-300, 2009.

HENNING, M. J.; MUNGER, H. M. ; JAHN, M. M. Hannah's Choice F1': a new muskmelon hybrid with resistance to powdery mildew, *Fusarium* race 2, and potyviruses. **HortScience**, v.40, n.2, p.492-493, 2005.

IBGE (2014, 20/10/2014). **Produção agrícola municipal: quantidade produzida, valor da produção, área plantada e área colhida da lavoura temporária**. Disponível em <<http://www.ibge.com.br/sidra>>. Acesso em: 20 jun. 2014.

KEINATH, A. P. Fungicide timing for optimum management of gummy stem blight epidemics on watermelon. **Plant Disease**, v.79, n.4, p.354-358, 1995.

KEINATH, A. P. Effect of fungicide applications scheduled to control gummy stem blight on yield and quality of watermelon fruit. **Plant Disease**, v.85, n.1, p.53-58, 2001.

KEINATH, A. P. Survival of *Didymella bryoniae* in buried watermelon vines in South Carolina. **Plant Disease**, v.86, n.1, p.32-38, 2002.

KEINATH, A. P. Survival of *Didymella bryoniae* in Infested muskmelon crowns in South Carolina. **Plant Disease**, v.92, n.8, p.1223-1228, 2008.

KEINATH, A. P. From native plants in central Europe to cultivated crops worldwide: the emergence of *Didymella bryoniae* as a cucurbit pathogen. **HortScience**, v.46, n.4, p.532-535, 2011.

KEINATH, A. P. Susceptibility of cucurbit rootstocks to *Didymella bryoniae* and control of gummy stem blight on grafted watermelon seedlings with fungicides. **Plant Disease**, v.97, n.8, p.1018-1024, 2013.

KEINATH, A. P. Differential susceptibility of nine cucurbit species to the foliar blight and crown canker phases of Gummy Stem Blight. **Plant Disease**, v.98, n.2, p.247-254, 2014a.

KEINATH, A. P. Reproduction of *Didymella bryoniae* on nine species of cucurbits under field conditions. **Plant Disease**, v.98, n.10, p.1379-1386, 2014b.

KEINATH, A. P.; FARNHAM, M. ; ZITTER, T. Morphological, pathological, and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. isolated from cucurbits. **Phytopathology**, v.85, n.3, p.364-369, 1995.

KOTHERA, R. T.; KEINATH, A. P.; DEAN, R. A. ; FARNHAM, M. W. AFLP analysis of a worldwide collection of *Didymella bryoniae*. **Mycological research**, v.107, n.03, p.297-304, 2003.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. ; REZENDE, J. Doenças das cucurbitáceas. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. H. Kimati, L. Amorim and A. Bergamin Filho. São Paulo, Agronômica Ceres. v.2. 2005 p.293-310.

LEE, D. H.; MATHUR, S. ; NEERGAARD, P. Detection and location of seed-borne inoculum of *Didymella bryoniae* and its transmission in seedlings of cucumber and pumpkin. **Journal of Phytopathology**, v.109, n.4, p.301-308, 1984.

LI, P.-F.; REN, R.-S.; YAO, X.-F.; XU, J.-H.; BABU, B.; PARET, M. L. ; YANG, X.-P. Identification and characterization of the causal agent of gummy stem blight from muskmelon and watermelon in East China. **Journal of Phytopathology**, v.163, n.4, p.314-319, 2015.

MAIA, S. M. F.; CARVALHO, J. L. N.; CERRI, C. E. P.; LAL, R.; BERNOUX, M.; GALDOS, M. V. ; CERRI, C. C. Contrasting approaches for estimating soil carbon changes in Amazon and Cerrado biomes. **Soil and Tillage Research**, v.133, p.75-84, 2013.

MCCREIGHT, J. D.; STAUB, J. E.; WEHNER, T. C. ; DHILLON, N. P. Gone global: familiar and exotic cucurbits have Asian origins. **HortScience**, v.48, n.9, p.1078-1089, 2013.

MITTERMEIER, R.; GIL, P.; HOFFMAN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C.; LAMOREUX, J. ; FONSECA, G. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions (CEMEX/Agrupación Sierra Madre, Mexico City, Mexico). **Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. CEMEX & Agrupacion Sierra Madre, Mexico city**, 2004.

NEERGAARD, E.; HAUPT, G. ; RASMUSSEN, K. Studies of *Didymella bryoniae*: The influence of nutrition and cultural practices on the occurrence of stem lesions and internal and external fruit rot on different cultivars of cucumber. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.99, n.5-6, p.335-343, 1993.

SAMANI, Z. A. ; HARGREAVES, G. H. **A crop water evaluation manual for Brazil**. Logan, Utah State University.1985

SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; LEÃO, F. F.; CÉSAR, M. ; FERNANDES, L. E. Progresso do crestamento gomoso e perdas na cultura da melancia. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.2, p.228-232, 2005a.

SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A. C. ; SABOYA, L. M. Controle químico do crestamento gomoso do caule em melancia. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p.155-163, 2005b.

SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D.; ALMEIDA, H. S.; RAMOS, L. N.; SARMENTO, R. A.; LIMA, S. d. O. ; ERASMO, E. A. L. Effect of nitrogen doses on disease severity and watermelon yield. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.3, p.330-334, 2009a.

SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D.; CARVALHO, A. R. S.; FIDELIS, R. R. ; AFFÉRI, F. S. Fontes e doses de silício na severidade do crestamento gomoso e produtividade da melancia. **Bioscience Journal**, v.26, n.2, 2010.

SANTOS, G. R.; DE CASTRO NETO, M. D.; RAMOS, L. N.; CAFÉ-FILHO, A. C.; REIS, A.; MOMENTÉ, V. G.; PELÚZIO, J. M. ; IGNÁCIO, M. Reaction of melon genotypes to the gummy stem blight and the downy mildew. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, p.160-165, 2009c.

SANTOS, G. R.; FERREIRA, M. Á. d. S. V.; PESSOA-FILHO, M. A. C. d. P.; FERREIRA, M. E. ; CAFÉ-FILHO, A. C. Host specificity and genetic diversity of *Didymella bryoniae* from cucurbitaceae in Brazil. **Journal of Phytopathology**, v.157, n.5, p.265-273, 2009b.

SANTOS, G. R.; LEÃO, E. U.; GONÇALVES, C. G. ; CARDON, C. H. Manejo da adubação potássica e da irrigação no progresso de doenças fúngicas e produtividade da melancia. **Horticultura Brasileira**, v.31, p.36-44, 2013a.

SANTOS, G. R.; ZAMBOLIM, L.; REZENDE, J. ; COSTA, H. **Manejo integrado de doenças da melancia**. Viçosa, UFV.2005c

SANTOS, H. G.; ALMEIDA, J.; OLIVEIRA, J. d.; LUMBRERAS, J.; ANJOS, L. d.; COELHO, M.; JACOMINE, P.; CUNHA, T. d. ; OLIVEIRA, V. d. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, Embrapa.2013b

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's Guide**. Cary, NC, USA.2008

SHANER, G. ; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, v.67, n.8, p.1051-1056, 1977.

SOUSA, S. C. R.; DOS SANTOS, G. R.; RODRIGUES, A. C.; BONIFÁCIO, A.; DALCIN, M. S. ; JULIATTI, F. C. Escala diagramática para avaliação da severidade do crestamento gomoso do caule em melancia. **Bioscience Journal**, v.30, n.5, p.1314-1324, 2014.

SUDISHA, J.; NIRANJANA, S. R.; UMESHA, S.; PRAKASH, H. S. ; SHEKAR SHETTY, H. Transmission of seed-borne infection of muskmelon by *Didymella*

bryoniae and effect of seed treatments on disease incidence and fruit yield. **Biological Control**, v.37, n.2, p.196-205, 2006.

SVEDELIUS, G. Effects of environmental factors and leaf age on growth and infectivity of *Didymella bryoniae*. **Mycological research**, v.94, n.7, p.885-889, 1990.

THOMAS, A.; LANGSTON, D. B.; SANDERS, H. F. ; STEVENSON, K. L. Relationship between fungicide sensitivity and control of gummy stem blight of watermelon under field conditions. **Plant Disease**, v.96, n.12, p.1780-1784, 2012.

VAN STEEKELENBURG, N. A. M. Factors influencing external fruit rot of cucumber caused by *Didymella bryoniae*. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.88, n.2, p.47-56, 1982.

VAN STEEKELENBURG, N. A. M. Epidemiological aspects of *Didymella bryoniae*, the cause of stem and fruit rot of cucumber. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.89, n.3, p.75-86, 1983.

VAN STEEKELENBURG, N. A. M. Influence of humidity on incidence of *Didymella bryoniae* on cucumber leaves and growing tips under controlled environmental conditions. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.91, n.6, p.277-283, 1985.

VAN STEEKELENBURG, N. A. M. Factors influencing internal fruit rot of cucumber caused by *Didymella bryoniae*. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.92, n.2, p.81-91, 1986.

VERZERA, A.; DIMA, G.; TRIPODI, G.; CONDURSO, C.; CRINÒ, P.; ROMANO, D.; MAZZAGLIA, A.; LANZA, C. M.; RESTUCCIA, C. ; PARATORE, A. Aroma and sensory quality of honeydew melon fruits (*Cucumis melo* L. subsp. *melo* var. *inodorus* H. Jacq.) in relation to different rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v.169, n.0, p.118-124, 2014.

VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; ZAMBOLIM, L.; VERZIGNASSI, J. R. ; BRANDÃO FILHO, J. U. T. Controle da podridão gomosa em melão rendilhado em cultivo protegido por sanitização de ferramenta de poda. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.626-630, 2004.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ficou demonstrado que a diversidade de abelhas encontradas neste estudo favorece positivamente a produção do meloeiro e que as cultivares desenvolvidas para cultivo em outras regiões produtoras tem potencial para ser utilizadas em plantios comerciais no Tocantins. A utilização de práticas agrícolas associadas ao manejo de paisagem, também deverá ser considerada, pois isto pode contribuir para o incremento da diversidade de polinizadores e por consequência, uma maior produtividade dos cultivos.

Embora as condições edafoclimáticas sejam favoráveis ao cultivo do meloeiro durante o ano, este deve ser realizado na estação seca, de forma que a sanidade da planta seja favorecida em detrimento dos fitopatógenos. A observação desse fator e a sua inclusão como tática de controle no manejo integrado das doenças da cultura tende a favorecer a eficiência e a racionalização do uso de pesticidas, bem como a otimização dos serviços de polinização efetuados pelas abelhas. Contudo, são necessários novos estudos ao longo do tempo e que associem outras táticas de manejo integrado de doenças com os serviços de polinização e a produção do meloeiro, nesta e em outras regiões de cultivo localizadas no Cerrado Brasileiro.