

***Bombus terrestris* e *Bombus spp.*; Captura, Identificação das Espécies, Subespécies e Castas, Ciclo de Vida e Dinâmica Populacional das Populações Selvagens**

João Carlos Mira Coroa Borges

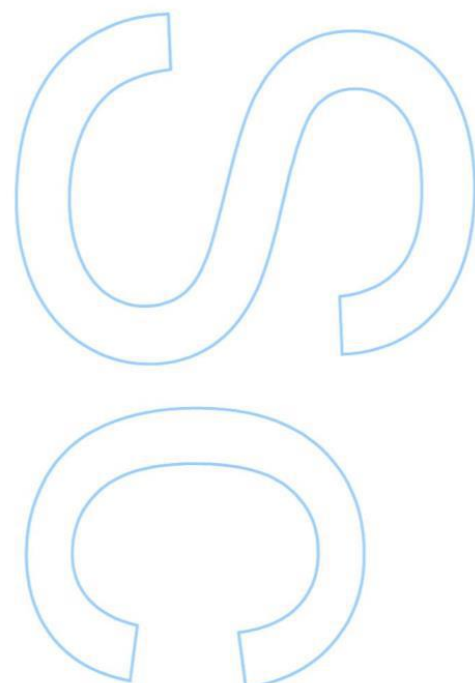
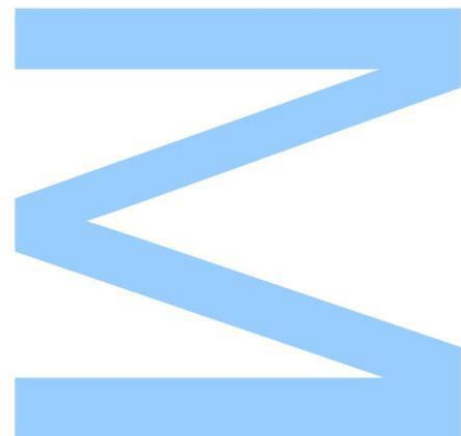
Mestrado em Engenharia Agronómica

Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território

2018

Orientador

Doutora Ana Álvares Ribeiro Marques de Aguiar, Professora Auxiliar,
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

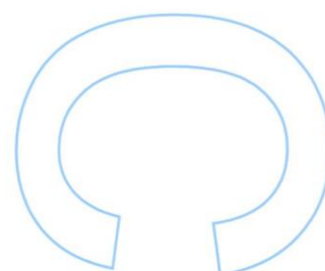
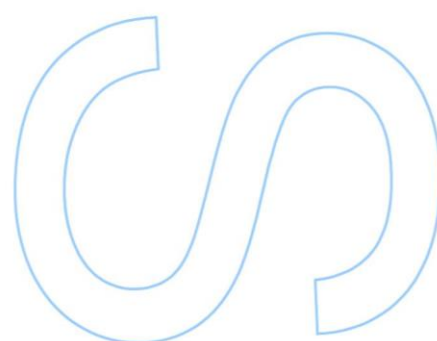
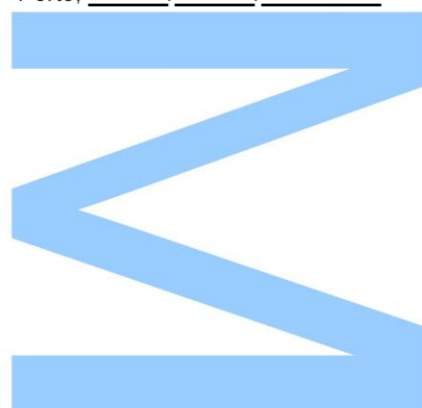




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____ / ____ / ____



Agradecimentos

Em primeiro lugar desejo agradecer aos meus pais, avós e irmã por todo o apoio incondicional que me deram em todas as minhas decisões e por sempre acreditarem que concluiria este objetivo.

Em segundo lugar à Dieke pelo apoio e persistência incondicionais, sem ela teria certamente sido impossível a conclusão deste trabalho; à Teresa, Sofia, Maria e Joanas pela coragem e força que sempre me transmitiram mostrando-me que seria capaz de terminar esta dissertação; à Elsa e à Filipa porque nunca me abandonaram no grande Porto, proporcionando-me a alegria que me permitia continuar; Ao Tomás, Sebastião, António, Luís, João e Pedros pelos momentos de tranquilidade, paz, felicidade e companheirismo que me permitiram manter o equilíbrio.

E em terceiro lugar, um especial agradecimento à Vera, que me acompanhou nos últimos anos e também ela permitiu que este momento fosse possível.

Por último, desejo agradecer à Professora Elisabete Figueiredo (Instituto Superior de Agronomia e à minha orientadora, Professora Ana Aguiar.

Resumo

As espécies pertencentes ao género *Bombus* distribuem-se pela região holártica e são agentes de polinização muito importantes. A espécie *Bombus terrestris* divide-se em nove subespécies, é nativa da Região Mediterrânica e encontra-se distribuída pela região Paleártica Oeste. Esta espécie pode equiparar-se à abelha (*Apis mellifera*) tanto na capacidade de polinizar, como na qualidade da polinização. As características morfológicas e a grande capacidade de adaptação desta espécie aliadas ao desenvolvimento tecnológico proporcionaram que esta espécie comesçasse a ser produzida comercialmente para utilização na agricultura, em pomares e estufas. Atualmente a utilização de *Bombus terrestris* e outros *Bombus spp.* na agricultura é uma prática generalizada.

Do ponto de vista económico, a utilização destes insetos na agricultura é rentável e é uma opção eficaz para a polinização das culturas com provas dadas. No entanto, a utilização de espécies por parte do Homem envolve sempre algumas consequências. Problemas relacionados com competição entre espécies, poluição genética das populações selvagens, transmissão de parasitas ou agentes patogénicos e alteração da flora nativa são reais e não devem ser ignorados, como tal têm que ser estudados.

No Reino Unido, Estados Unidos da América, Austrália, Japão, entre outros, os *Bombus spp.* já são estudados há algum tempo, por outro lado em Portugal a informação é muito escassa. Especula-se que a introdução de *Bombus terrestris* para utilização agrícola tenha acontecido nos anos noventa, na mesma altura que ocorreu em Espanha, como tal, já não é um assunto novo e necessita ser mais estudado. Pretende-se com este trabalho providenciar informação sobre as populações selvagens de *Bombus terrestris* em Portugal, nomeadamente o seu ciclo de vida, dinâmica populacional e características como o comprimento e a largura. Além disso pretende-se ainda confirmar que os *Bombus terrestris* não têm preferências florais, sendo assim generalistas.

Neste trabalho foram capturados e observados *Bombus terrestris* nos Jardins do Palácio de Cristal, no Porto. Foi capturado um indivíduo por semana. No momento da captura cada indivíduo foi medido com um paquímetro e observado com uma lupa de bolso. Posteriormente todos os indivíduos foram identificados (género e espécie) e medidos em laboratório com uma lupa binocular com software para medição.

Conseguiu-se proporcionar informação sobre a biologia e ciclo de vida destes insetos na natureza e ainda sobre a sua utilização na agricultura e as consequências

que esta tem. Foi possível concluir que todos os indivíduos capturados pertenciam à espécie *Bombus terrestris*, tendo sido capturadas vinte obreiras, três rainhas e dois machos. Comprovou-se estatisticamente que o paquímetro não é um instrumento que garanta precisão na medição destes insetos. Concluiu-se que existia uma diferença significativa entre as medições efetuadas neste trabalho e as medições efetuadas por Ahmar (2017) na Região Litoral Norte, no entanto seria interessante estudar estas diferenças com o auxílio de um geneticista. Por fim, confirmou-se a característica generalista dos *Bombus terrestris* no que toca à escolha de flores a visitar.

Palavras-chave: Polinização; Polinizadores; Insetos Eusociais; *Hymenoptera*; *Apidae*; *Bombini*

Abstract

Species belonging to the genus *Bombus* spread throughout the Holarctic Region and are fundamental pollination agents. The species *Bombus terrestris* divides into nine subspecies and is native to the Mediterranean Region. It finds itself spread along the West of the Palearctic Region. Concerning the capability to pollinate and the quality of the pollination, this species proves to be as good as honeybees (*Apis mellifera*). The *Bombus terrestris*'s morphological characteristics and the ability to adapt combined with technological advance, made it possible to commercially rear this species to be used in agriculture. Currently the use of *Bombus terrestris* and other *Bombus* species in agriculture is a standardized practice.

It has been proved that the use of *Bombus terrestris* is both effective and economically reliable in pollination, however, some ecological consequences arise. Problems relating to the competition between species, the genetic pollution of native species, the transmission of parasites or pathogens and changes in the native flora are current and real and must, therefore, not be ignored, but studied.

In the United Kingdom, the United States of America, Australia, Japan and others, researches have been made and lots of information is available on this topic. In Portugal, on the other hand, there is very little information available. The introduction of *Bombus terrestris* for agricultural use in Portugal was most likely made in the nineties, and therefore it is not a new subject and it needs to be studied further. This thesis aims to provide information regarding the native populations of *Bombus terrestris* in Portugal, mainly regarding the life-cycle, populational dynamics and morphological characteristics such as length and thorax width. Furthermore, it intends to confirm that *Bombus terrestris* have no floral preference, thus being generalist pollinators.

For this project, one individual per week of the species *Bombus terrestris* was captured and observed in the Jardins do Palácio de Cristal, in Porto. At the time of the capture each individual was measured with a caliper and observed with a magnifying glass. Later, each individual was identified (genus and species) and measured in the laboratory with a binocular lens with measurement software.

It was possible to provide information regarding the biology and life-cycle of these insects both in nature and also as a commercially reared species, taking into account the consequences that come with it. Twenty workers, three queens and two males were captured and identified as *Bombus terrestris*. It was statistically proven that the caliper

is not a reliable instrument regarding the measurement of these insects. It was concluded that there was a significant difference between the measurements done for this project and the measurements done by Ahmar (2017) on a diferente location. In the future, it would be interesting to study these differences with the aid of a geneticist, in order to find reliable explanations for these differences. Finally, it was confirmed that *Bombus terrestris* are generalist pollinators regarding its choice of flowers.

Keywords: Pollination; Pollinators; Eusocial Insects; *Hymenoptera*; *Apidae*; *Bombini*

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract	IV
Índice de Tabelas	VIII
Índice de Figuras	IX
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica	4
2.1. Caracterização do género <i>Bombus</i>	4
2.2. Caracterização da espécie <i>Bombus terrestris</i>	8
2.3. Características das Subespécies de <i>Bombus terrestris</i>	10
2.4. Ciclo de Vida dos <i>Bombus terrestris</i>	14
2.5. Identificação Morfológica Interespecífica.....	16
2.6. Importância dos <i>Bombus spp.</i> na Polinização	20
2.7. Domesticação de <i>Bombus spp.</i>	21
2.8. Criação para Uso Comercial e Uso Comercial	22
2.9. Ameaças ao Equilíbrio dos Ecossistemas por Introdução de Colmeias Comerciais de <i>Bombus terrestris</i>	25
3. Materiais e Métodos.....	33
3.1. Captura e identificação de <i>Bombus terrestris</i> na natureza	33
3.1.1. Material	33
3.1.2. Metodologia.....	33
3.2. Identificação de <i>Bombus spp.</i> em laboratório	34
3.2.1. Material	34
3.2.2. Metodologia.....	34
4. Resultados e Discussão.....	36
4.1. Nota Prévia	36
4.2. Identificação Morfológica dos Indivíduos Capturados	36
4.3. Medições em Laboratório	40
4.3.1. Medições em Laboratório dos Indivíduos Conservados em Álcool.....	40
4.3.2. Medições em Laboratório dos Indivíduos Capturados	42
4.3.3. Verificação da Validade das Medições Efetuadas com Paquímetro.....	49
4.4. Flores nas quais foram efetuadas as capturas	52

5. Conclusão.....	55
6. Referências Bibliográficas.....	57

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Lista dos Subgéneros do Género <i>Bombus</i> com informação sobre distribuição e número de espécies existentes; Ho – Holártico; Ne – Neoártico; Nt – Neotropical; Pa - Paleártico (Kawakita, et al., 2004)	5
Tabela 2: Classificação Taxonómica do <i>Bombus terrestris</i> . Fonte: (ITIS, s.d.).....	9
Tabela 3 - Espécies de Abelhões utilizadas comercialmente para polinização (Fonte: adaptado de Velthuis & van Doorn (2006))	25
Tabela 4 - Países nos quais a introdução de <i>Bombus terrestris</i> provocou alterações no ecossistema e respetivos trabalhos que o comprovam (Fonte: Velthuis & van Doorn, 2006).....	30
Tabela 5 - Estatística Descritiva das obreiras conservadas em álcool	41
Tabela 6 - Estatística Descritiva das rainhas conservadas em álcool	41
Tabela 7 - Estatística Descritiva das obreiras capturadas	43
Tabela 8 - Estatística Descritiva dos machos capturados	43
Tabela 9 - Estatística Descritiva da rainha capturada	43
Tabela 10 - Estatística Descritiva das obreiras para teste de comparação de médias	44
Tabela 11 - Estatística Descritiva das obreiras de Ahmar (2017)	45
Tabela 12 - Testes de Shapiro-Wilk (amostra vs Ahmar (2017))	45
Tabela 13 - Teste de comparação de médias	46
Tabela 14 - Teste de Shapiro-Wilk (Paquímetro vs Lupa Binocular)	49
Tabela 15: Média e Desvio padrão das amostras (Paquímetro vs Lupa Binocular).....	50
Tabela 16 - Teste de comparação de médias (Paquímetro vs Lupa Binocular).....	50
Tabela 17 - Flores em que foram capturados os indivíduos e mês da captura.....	53

Índice de Figuras

Figura 1 - Ecozonas do Planeta Terra (Fusão das regiões Neoártica e Paleártica corresponde à Região Holoártica) Fonte: (Procheş & Ramdhani, 2012)	4
Figura 2 - Vista lateral da cabeça de um <i>Bombus</i> fêmea (<i>Odontobombus</i>) - c-d: Espaço malar. Fonte: (Løken, 1973)	8
Figura 3 - Corbícula. a) Tíbia da pata posterior de uma obreira de <i>Bombus</i> (<i>Pyrobombus</i>) <i>impatiens</i> Cresson; b) Tíbia da pata posterior de uma obreira de <i>Bombus</i> (<i>Psithyrus</i>) <i>fernaldae</i> Franklin. Fonte: (Michener, 2007).....	8
Figura 4 - Legenda das partes relevantes na distinção das subespécies de <i>Bombus terrestris</i> através da cor das riscas. Fonte: adaptado de (Rasmont, et al., 2008)10	
Figura 5 - Distribuição geográfica das subespécies de <i>Bombus terrestris</i> e características das riscas. Fonte: (Rasmont, et al., 2008).....	13
Figura 6 - Ciclo de Vida. Fonte: (Bumblebees, s.d.).....	16
Figura 7 - Semelhanças morfológicas entre as quatro espécies: A - <i>Bombus cryptarum</i> ; B - <i>Bombus lucorum</i> ; C - <i>Bombus magnus</i> ; D - <i>Bombus terrestris</i> . Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013	17
Figura 8 - Distribuição de <i>Bombus cryptarum</i> na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013. Fonte: (Rasmont & Iserbyt, 2013)	18
Figura 9 - Distribuição de <i>Bombus lucorum</i> na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013	18
Figura 10 - Distribuição de <i>Bombus magnus</i> na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013	19
Figura 11 - Distribuição de <i>Bombus terrestris</i> na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013	19
Figura 12 - Uso de abelhões para polinização em estufas de tomate holandesas desde o início da produção de abelhões para uso comercial. Fonte: (Velthuis & Doorn, 2006)	23
Figura 13 - Castas Capturadas	37
Figura 14 - Temperatura e Ocorrência de Precipitação no Momento da Captura; Semanas nas quais não foram observados <i>Bombus terrestris</i>	38
Figura 15 - Exemplos de <i>Bombus terrestris</i> capturados. A - Rainha (26/2/2018); B - Macho (18/4/2018); C - Obreira (26/2/2018)	38
Figura 16 - Segmentos das antenas de <i>Bombus terrestris</i>	39
Figura 17 - Histograma de frequência de diferentes larguras do tórax de <i>Bombus terrestris</i> provenientes de 28 ninhos. Fonte: Goulson, 2010	42

Figura 18 - Comprimento dos Indivíduos Capturados em 2016 (Ahmar, 2017) e em 2018 (no âmbito deste trabalho)	48
Figura 19 - Largura dos Indivíduos Capturados em 2016 (Ahmar, 2017) e em 2018 (no âmbito deste trabalho)	48
Figura 20 - Comprimento medido com paquímetro vs em laboratório	51
Figura 21 - Largura medida com paquímetro vs em laboratório	51
Figura 22 - Flores nas quais foram capturados <i>Bombus terrestris</i> . A - <i>Viola tricolor</i> ; B - <i>Camellia japonica</i> ; C - <i>Rhododendron arboreum</i> ; D - <i>Agapanthus africanus</i> ; E - <i>Acanthus mollis</i>	52
Figura 23 - Época de floração	53

1. Introdução

A natureza alberga um elevado número de organismos direta e potencialmente importantes para a humanidade. Cabe ao Homem encontrar o valor destes organismos assim como a melhor forma de os utilizar, domesticar e criar, tendo em mente o conceito de desenvolvimento sustentável (Velthuis, 2002). Existem mais de 20,000 espécies de abelhas (pertencentes ao subgrupo *Anthophila* que, por sua vez, pertence à superfamília *Apoidea* da ordem *Hymenoptera*) e é aceite que a maioria tem importância na agricultura, nomeadamente na polinização. É consensual que as diferentes características morfológicas destes insetos (como o tamanho do corpo e da língua) têm alguma influência na seleção das flores que os mesmos polinizam (Velthuis, 2002).

Surgem então os abelhões (pertencentes ao género *Bombus*) como excelentes polinizadores. Com cerca de 250 espécies, os *Bombus spp.* distribuem-se pela região holártica e são insetos eusociais primitivos que possuem corbícula (concauidade na tíbia das patas posteriores que tem o propósito de transportar pólen) de grande importância na polinização (Williams, et al., 2008; Kawakita, et al., 2004; Cameron, et al., 2007). Dentro deste género destaca-se a espécie *Bombus terrestris*, a única espécie que ocorre naturalmente na região Mediterrânica, que se distribui essencialmente pela região Paleártica Oeste e está dividida em nove subespécies (Coppée, 2010; Rasmont, et al., 2008). É um excelente polinizador, estando ao nível, ou até superando, a abelha (*Apis mellifera*), uma vez que é capaz de fazer “Buzz-pollination” (polinização por vibração dos músculos das asas, que a abelha comum não é capaz de fazer), é generalista no que toca à preferência por flores, tem uma língua de maior dimensão, são mais rápidos e suportam mais facilmente condições climáticas adversas do que a abelha (Chittka, et al., 2004; Coppée, 2010).

Além das características morfológicas que posicionam os *Bombus spp.* como excelentes polinizadores, estes proporcionam ainda uma polinização de qualidade, que pode garantir maior produtividade, maior vigor e maior qualidade às plantas (Stoddard & Bond, 1987). A grande capacidade de adaptação e o desenvolvimento tecnológico aliadas à eficiência em culturas de ar livre, disponibilidade e atividade durante todo o ano em estufa (van den Eijnde & de Ruijter, 1991; van der Eijnde, et al., 1991) e o facto de a polinização ser mais barata do que a polinização manual, tornaram os *Bombus*, e principalmente os *Bombus terrestris*, nos principais candidatos à produção em massa de colónias para venda comercial e utilização em estufas e pomares para polinização (Dafni, et al., 2010; Velthuis & Doorn, 2006). Como principais candidatos que são, a sua

utilização na agricultura é hoje um dia uma prática generalizada (Velthuis & Doorn, 2006; Velthuis, 2002).

Sladen (1912) foi dos primeiros a tentar domesticar abelhões e, seguindo os seus estudos, outros desenvolveram métodos e estabeleceram parâmetros para a domesticação e mais tarde criação de colónias de *Bombus spp.*. Em 1987 é criada por Dr. de Jonghe a primeira empresa de produção de abelhões para uso comercial, a Biobest. Nos anos seguintes surgiram mais algumas empresas no ramo e iniciava-se o negócio da produção de polinizadores em massa para utilização comercial em estufas e pomares (Velthuis, 2002; Velthuis & Doorn, 2006). As espécies mais utilizadas são *Bombus terrestris* (originário da região Paleártica Oeste e utilizado na Europa, Norte de África, Ásia, Austrália e América do Sul) e *Bombus impatiens* (originário dos Estados Unidos da América e utilizado no mesmo local). Além destas espécies foram também criadas colónias de *Bombus lucorum* (utilizados no Este Asiático), *Bombus ignitus* (utilizados no Este Asiático) e *Bombus occidentalis* (utilizados no Oeste dos Estados Unidos da América) (Velthuis & Doorn, 2006).

Infelizmente, os *Bombus spp.*, e principalmente os *Bombus terrestris*, não são importantes apenas por boas razões. Todos os benefícios da utilização de *Bombus spp.* comercialmente levaram a que a componente ecológica fosse esquecida, e atualmente entende-se que o transporte e utilização de espécies em locais em que não são nativas pode trazer (e certamente traz) muitas ameaças ao equilíbrio dos ecossistemas (Dafni, et al., 2010; Velthuis & Doorn, 2006). As características dos abelhões que consideramos positivas tendo em conta o ponto de vista económico e agroindustrial, são praticamente as mesmas que fazem dos *Bombus spp.* insetos invasores quando introduzidos em locais aos quais não são nativos (Dafni, et al., 2010; Velthuis & Doorn, 2006). Em países como o Japão, Austrália, Nova Zelândia, Israel, Estados Unidos da América, Chile e Argentina já se verificam as consequências negativas da introdução de espécies não nativas para polinização das culturas. Os principais problemas causados pelos *Bombus spp.* enquanto espécie invasora estão relacionados com competição entre espécies, poluição genética, transmissão de parasitas ou agentes patogénicos e alteração da flora nativa (Goulson, 2010).

Em países como o Reino Unido, Estados Unidos da América, Austrália, Japão, entre outros, já existem muitos estudos neste tema, mas em Portugal o mesmo não se verifica. Especula-se que a utilização de *Bombus terrestris* na agricultura em Portugal tenha acontecido nos anos noventa, a par de Espanha (Figueiredo, et al., 2011, citado em Ahmar (2017)), mas mesmo após todos estes anos a informação escasseia. A falta

de informação sobre as consequências (positivas ou negativas) da utilização de *Bombus terrestris* em Portugal torna crucial a necessidade de estudar este tema o mais rapidamente possível.

Neste trabalho foram observados e capturados *Bombus terrestris* no Palácio de Cristal, no Porto, com o objetivo de contribuir para um melhor conhecimento das populações nativas, o seu ciclo de vida, dinâmicas populacionais e ainda características como o comprimento e a largura. Por outro lado pretende ainda confirmar-se a característica generalista no que toca a preferências florais que os abelhões manifestam. De forma mais moral do que prática, e uma vez que a informação é muito escassa em Portugal, deseja-se ainda informar a população em geral sobre os *Bombus spp.* existentes na natureza numa altura em que cada vez mais se utilizam *Bombus spp.* de origem comercial na agricultura.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Caracterização do género *Bombus*

O género *Bombus* (de nome comum abelhão) é constituído por cerca de 250 espécies que se dividem atualmente por 38 subgéneros (tabela 1). Encontra-se distribuído essencialmente pela região holártica, que consiste na fusão da região Paleártica com a região Neoártica (compreende todas as zonas não tropicais da Europa e da Ásia, África a Norte do Sahara e América do Norte até à região desértica do México) (figura 1) (Williams, et al., 2008; Kawakita, et al., 2004; Cameron, et al., 2007). A distribuição é limitada a Norte pelo fim dos continentes e a Sul pelo deserto do Sahara, existindo também abelhões nas ilhas Canárias. Já a Este as espécies de *Bombus* são numerosas nos Himalaias e estão presentes na Índia apenas acima dos 1000 metros de altitude. A Sudeste os *Bombus* estendem-se até algumas zonas montanhosas asiáticas, estando presentes nas ilhas de Java, Taiwan e Filipinas, mas estão ausentes em zonas de menor altitude. Na América do Sul a fauna é mais reduzida, mas podem encontrar-se espécies de *Bombus* até Terra do Fogo especialmente em zonas montanhosas (Michener, 2007; Hines, 2008). Excluindo as espécies parasíticas, existem 199 espécies na Ásia, 58 na Europa, 41 na América do Norte e 43 no México, América Central e América do Sul (Williams, 1985; Michener, 2007).

Figura 1 - Ecozonas do Planeta Terra (Fusão das regiões Neoártica e Paleártica corresponde à Região Holoártica) Fonte: (Procheş & Ramdhani, 2012)



Tabela 1 - Lista dos Subgêneros do Género *Bombus* com informação sobre distribuição e número de espécies existentes; Ho – Holártico; Ne – Neoártico; Nt – Neotropical; Pa - Paleártico (Kawakita, et al., 2004)

Subgênero	Distribuição	Número de Espécies
<i>Alpigenobombus</i>	Pa	6
<i>Alpinobombus</i>	Ho	5
<i>Bombias</i>	Ne	1
<i>Bombus s. str.</i>	Ho	10
<i>Brachycephalobombus</i>	Nt	2
<i>Coccineobombus</i>	Nt	2
<i>Confusibombus</i>	Pa	1
<i>Crotchibombus</i>	Ne	1
<i>Cullumanobombus</i>	Ho	4
<i>Dasybombus</i>	Nt	2
<i>Diversobombus</i>	Pa	4
<i>Eversmannibombus</i>	Pa	1
<i>Exilobombus</i>	Pa	1
<i>Fervidobombus</i>	Ne, Nt	20
<i>Festivobombus</i>	Pa	1
<i>Fraternobombus</i>	Ne	1
<i>Funebribombus</i>	Nt	2
<i>Kallobombus</i>	Pa	1
<i>Laesobombus</i>	Pa	1
<i>Megabombus</i>	Pa	14
<i>Melanobombus</i>	Pa	14
<i>Mendacibombus</i>	Pa	12
<i>Mucidobombus</i>	Pa	1
<i>Obertobombus</i>	Pa	2
<i>Orientalibombus</i>	Pa	3
<i>Pressibombus</i>	Pa	1
<i>Psithyrus</i>	Ho	29
<i>Pyrobombus</i>	Ho	43
<i>Rhodobombus</i>	Pa	3
<i>Robustobombus</i>	Nt	5
<i>Rubicundobombus</i>	Nt	1
<i>Rufipedibombus</i>	Pa	2
<i>Senexibombus</i>	Pa	4

<i>Separatobombus</i>	Ne	2
<i>Sibiricobombus</i>	Pa	5
<i>Subterraneobombus</i>	Ho	9
<i>Thoracobombus</i>	Pa	19
<i>Tricornibombus</i>	Pa	3

Com exceção ao subgénero *Psithyrus* (que não possui uma casta obreira) as espécies do género *Bombus* são regularmente descritas como eusociais primitivos, sendo considerados ligeiramente inferiores à abelha (*Apis mellifera*) uma vez que se crê que possuem uma menor organização no que toca à definição das tarefas das obreiras dentro das colónias (Michener, 2007; Ortiz & Swinderman, 2012). Ser inseto eusocial implica uma divisão clara das castas, a sobreposição de gerações, uma cooperação entre os adultos na construção do ninho e nos cuidados com a ninhada e ainda que apenas algumas fêmeas se reproduzem. Os insetos eusociais primitivos diferenciam-se dos eusociais avançados pela semelhança morfológica entre a rainha e a casta trabalhadora (Ortiz & Swinderman, 2012). Os *Bombus* estão divididos em três castas: rainha, obreira e machos. A rainha normalmente recolhe pólen e néctar até a colónia ter um número suficiente de obreiras, momento este em que a rainha passa a ter apenas a função de pôr ovos. As obreiras são responsáveis por sair diariamente da colmeia para coletar pólen e néctar. Já os machos têm apenas o papel de fecundar a rainha no final do ciclo (Ahmar, 2017). Uma outra característica comum neste género é a preferência por fazer ninho abaixo do chão, muitas vezes em ninhos abandonados de roedores, no entanto algumas espécies também fazem ninho em troncos de árvore ocos (Williams, et al., 2008; Capinera, 2008). O ciclo de vida é normalmente anual e inicia-se na primavera com o fim da diapausa de uma rainha fertilizada que irá procurar um local para fazer o ninho e iniciar a coleção de néctar e pólen e a postura de ovos. O ciclo de vida termina com fim do outono/início do inverno com a entrada de futuras rainhas em diapausa (Prys-Jones & Corbet, 2014; Michener, 2007).

Os indivíduos das espécies pertencentes ao género *Bombus* são, de forma geral, de tamanho médio/grande (9mm a 22mm de comprimento) e com bastante pelo, normalmente preto e amarelo, cor-de-laranja ou vermelho. Geralmente possuem a língua de tamanho médio/longo. São insetos adaptados a climas frios, capazes de regular a temperatura por endotermia. (Goulson, 2010; Capinera, 2008; Williams, et al., 2008; Michener, 2007).

A maioria dos abelhões é flexível (generalista) no que toca à escolha das flores que visita para coleção de pólen e néctar, e existem vários estudos que demonstram a sua facilidade em visitar uma grande diversidade de flores. Tendo em conta o leque de plantas polinizadas por insetos, os abelhões possuem certamente uma grande importância (Goulson, 2010).

Existe no género *Bombus* uma divisão das espécies no que diz respeito à forma como armazenam o pólen, sendo que algumas espécies são “pocket makers”, isto é, constroem recipientes de cera nos quais depositam o pólen para alimentação das larvas. As outras espécies são “pollen storers”, que alimentam individualmente as larvas por regurgitação de pólen e néctar. As larvas encontram-se em células individuais de cera e seda onde vivem até atingir a fase de pupa (Williams, et al., 2008; Goulson, 2010; Michener, 2007).

Como todos os insetos da ordem *Hymenoptera*, também os insetos do género *Bombus* são haplo-diploides, isto é, as fêmeas são diploides e os machos, que são haploides, provêm de ovos não fertilizados (Van Wilgenburg, et al., 2006; Cowan & Stalhut, 2004).

Existem duas características que diferenciam facilmente o género *Bombus*, o espaço malar longo (figura 2) e a presença de corbícula (figura 3) nas fêmeas (obreiras e rainhas). O espaço malar corresponde à distância mais curta entre a base da mandíbula e a margem do olho composto. A corbícula corresponde a uma concavidade na tíbia das patas posteriores e tem como objetivo o transporte de pólen (Michener, 2007; Capinera, 2008; Rasmont, 1984; Løken, 1973).

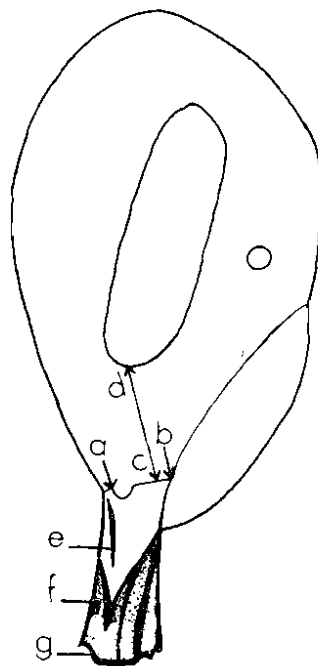


Figura 2 - Vista lateral da cabeça de um *Bombus* fêmea (*Odontobombus*) - c-d: Espaço malar. Fonte: (Løken, 1973)

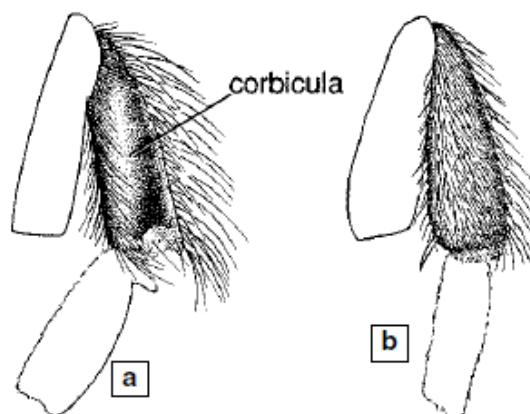


Figura 3 - Corbícula. a) Tíbia da pata posterior de uma obreira de *Bombus* (*Pyrobombus*) *impatiens* Cresson; b) Tíbia da pata posterior de uma obreira de *Bombus* (*Psithyrus*) *fernaldae* Franklin. Fonte: (Michener, 2007)

2.2. Caracterização da espécie *Bombus terrestris*

O *Bombus terrestris*, ou abelhão (nome comum em Portugal), é um inseto que pertence à ordem *Hymenoptera*, sub-ordem *Apocrita*, super-família *Apoidea*, família *Apidae*, sub-família *Apinae*, tribo *Bombini* e género *Bombus* (Classificação taxonómica na tabela 2) (ITIS, s.d.). Esta espécie encontra-se distribuída na região Paleártica Oeste

(entre Portugal e a Ucrânia e o Norte de África e a Escandinávia), maioritariamente na zona do Mar Mediterrâneo, com exceção ao Egipto, onde esta espécie não existe (Coppée, 2010; Rasmont, 2008).

Tabela 2: Classificação Taxonómica do *Bombus terrestris*. Fonte: (ITIS, s.d.)

Classificação Taxonómica	
Ordem	<i>Hymenoptera</i>
Sub-ordem	<i>Apocrita</i>
Super Família	<i>Apoidea</i>
Família	<i>Apidae</i>
Sub-família	<i>Apinae</i>
Tribo	<i>Bombini</i>
Género	<i>Bombus</i>
Espécie	<i>Bombus terrestris</i>

O *Bombus terrestris* é um inseto eusocial primitivo de dimensão grande (10-28 mm de comprimento) e a sua língua tem entre 4,5 e 6,5 mm. Devido à sua capacidade de termorregulação esta espécie consegue estar ativa mesmo em dias com temperaturas de 10°C (temperatura à qual a abelha, *Apis mellifera*, não sai da colmeia) e ventos fortes (Chittka, et al., 2004; Coppée, 2010; Dafni, et al., 2010). Como é regra no género *Bombus*, também o *Bombus terrestris* é capaz de efetuar “Buzz-pollination” (polinização por vibração dos músculos das asas) (Velthuis & Doorn, 2006; Plowright & Lavery, 1987). Esta espécie tem a capacidade de manipular vários tipos de flores, sendo assim uma espécie generalista no que toca à escolha das flores a visitar (Stout, et al., 1998). Segundo Rasmont (1988) e os seus estudos em França e na Bélgica, o *Bombus terrestris* é capaz de visitar 309 espécies de plantas diferentes (citado em Rasmont, et al., 2008). No que toca a culturas cultivadas existem registos de utilização de *Bombus terrestris* em abóbora, melão, morango (Velthuis & Doorn, 2006), pimento (Kwon & Saeed, 2003; Abak, et al., 1997), kiwi (Pomeroy & Fisher, 2002), maçã, amendoa (Thomson & Goodell, 2001), beringela, melancia, pepino, curgete, mirtilo, arando, groselha, pera, cereja, pêssago, damasco, (Biobus, s.d.), ameixa (Calzoni & Speranza, 1998), framboesa (Willmer, et al., 1994) e abacate (Ish-am, et al., 1998). Além de visitar muitas espécies de plantas, também é bastante rápido a fazê-lo, como indica Free (1993) ao afirmar que o *Bombus terrestris* é capaz de visitar 20 a 50 flores

pequenas e simples por minuto e 20 a 35 flores por minuto no caso do trevo violeta (*Trifolium pratense*) (citado em Dafni, et al., 2010).

2.3. Características das Subespécies de *Bombus terrestris*

A espécie *Bombus terrestris* possui nove subespécies: *terrestris* (L.); *africanus* (Krüger 1956); *audax* (Harris 1780); *calabricus* (Krüger 1958); *canariensis* (Pérez 1895); *dalmatinus* (Dalla Torre 1882); *lusitanicus* (Krüger 1956); *sassaricus* (Tournier 1890); *xanthopus* (Kriechbaumer 1870) (Coppée, 2010; Rasmont, et al., 2008).

Por forma a distinguir as subespécies uma das características mais consideradas é a cor das riscas no tórax e no abdómen e a cor das patas. De forma a expor as diferenças que existem, de seguida encontra-se uma pequena descrição sobre as cores das riscas de cada subespécie. Para que seja mais fácil seguir a descrição apresenta-se também uma imagem que ilustra alguns termos técnicos (figura4).

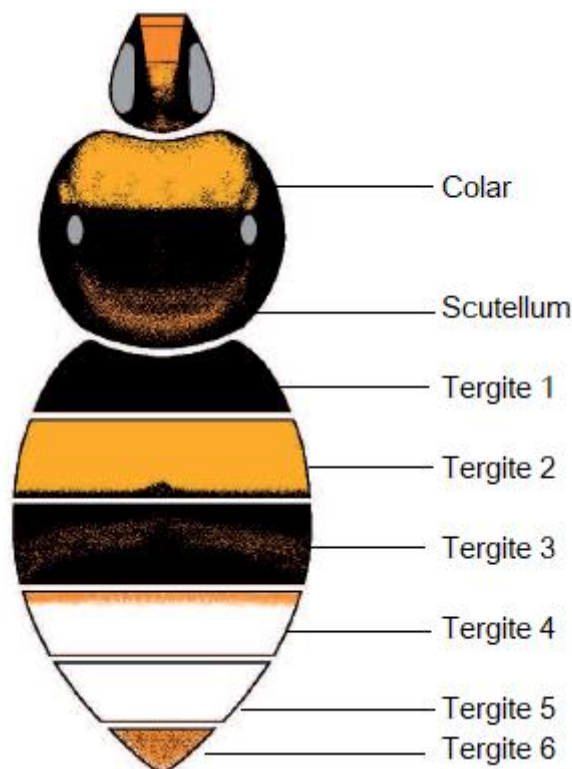


Figura 4 - Legenda das partes relevantes na distinção das subespécies de *Bombus terrestris* através da cor das riscas.

Fonte: adaptado de (Rasmont, et al., 2008)

Subespécie *terrestris* (L.)

Risca amarela no colar sem ser inteiramente coberto, por vezes com alguns pelos pretos. Tergito 2 amarela. Tergitos 4 e 5 e parte lateral da tergito 6 brancas ou esbranquiçadas. Preto nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas pretas. Distribui-se pela Europa Continental (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *africanus* (Krüger 1956)

Colar completamente amarelo. Tergito 2 amarela. Tergitos 4 e 5 e parte lateral da tergito 6 brancas ou esbranquiçadas. Preto nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas pretas. Distribui-se pelo Norte de África (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *audax* (Harris 1780)

Colar amarelo sem ser inteiramente coberto, por vezes com alguns pelos pretos. Tergito 2 amarela. Tergitos 4 e 5 e parte lateral da tergito 6 ligeiramente avermelhadas nas rainhas e brancas nas obreiras e machos. Preto nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas pretas. Distribui-se pelas ilhas Britânicas (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *calabricus* (Krüger 1958)

Colar completamente amarelo e bastante largo. Tergito 2 amarela. Tergitos 4 e 5 e parte lateral da tergito 6 brancas. Preto nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas pretas. Distribui-se pelo Sul de Itália e Sicília (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *canariensis* (Pérez 1895)

Tórax inteiramente preto. Tergitos 4 e 5 brancas e tergito 6 com pelos brancos e pretos. Preto nas restantes áreas do abdómen e cutícula e patas pretas. Distribui-se apenas pelas Ilhas Canárias (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *dalmatinus* (Dalla Torre 1882)

Colar completamente amarelo. Tergito 2 amarela. Tergitos 4 e 5 e parte lateral da tergito 6 brancas. Preto nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas pretas. Distribui-se pelo Sudeste de França, Norte de Itália e Península dos Balcãs e regiões envolventes como Anatólia, Transcaucásia, Cáucaso, Norte do Irão, Sul dos montes Urais, Cordilheira Alai e Altai (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *lusitanicus* (Krüger 1956)

Colar amarelo sem ser inteiramente coberto, mas mais coberto do que o de *Bombus terrestris terrestris*. Por vezes com alguns pelos avermelhados no scutellum. Tergito 2 amarela. Tergitos 4 e 5 e parte lateral da tergito 6 brancas. Preto ou avermelhado nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas avermelhadas. Distribui-se pela Península Ibérica, Sudoeste de França, Ilhas Baleares e Madeira (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *sassaricus* (Tournier 1890)

Poucos ou nenhuns pelos amarelos no colar. Tergito 2 amarela. Tergitos 4, 5 e 5 esbranquiçadas. Preto ou avermelhado nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas avermelhadas. Distribui-se apenas pela ilha de Sardenha (Rasmont, et al., 2008).

Subespécie *xanthopus* (Kriechbaumer 1870)

Poucos ou nenhuns pelos amarelos no colar. Tergitos 4, 5 e 6 avermelhadas a vermelhas. Preto nas restantes áreas do tórax e abdómen e cutícula e patas avermelhadas. Distribui-se pelas ilhas de Corsega, Capraia e Elba (Rasmont, et al., 2008).

De seguida apresenta-se uma figura com a distribuição geográfica das várias subespécies e também as características das riscas (figura 5).

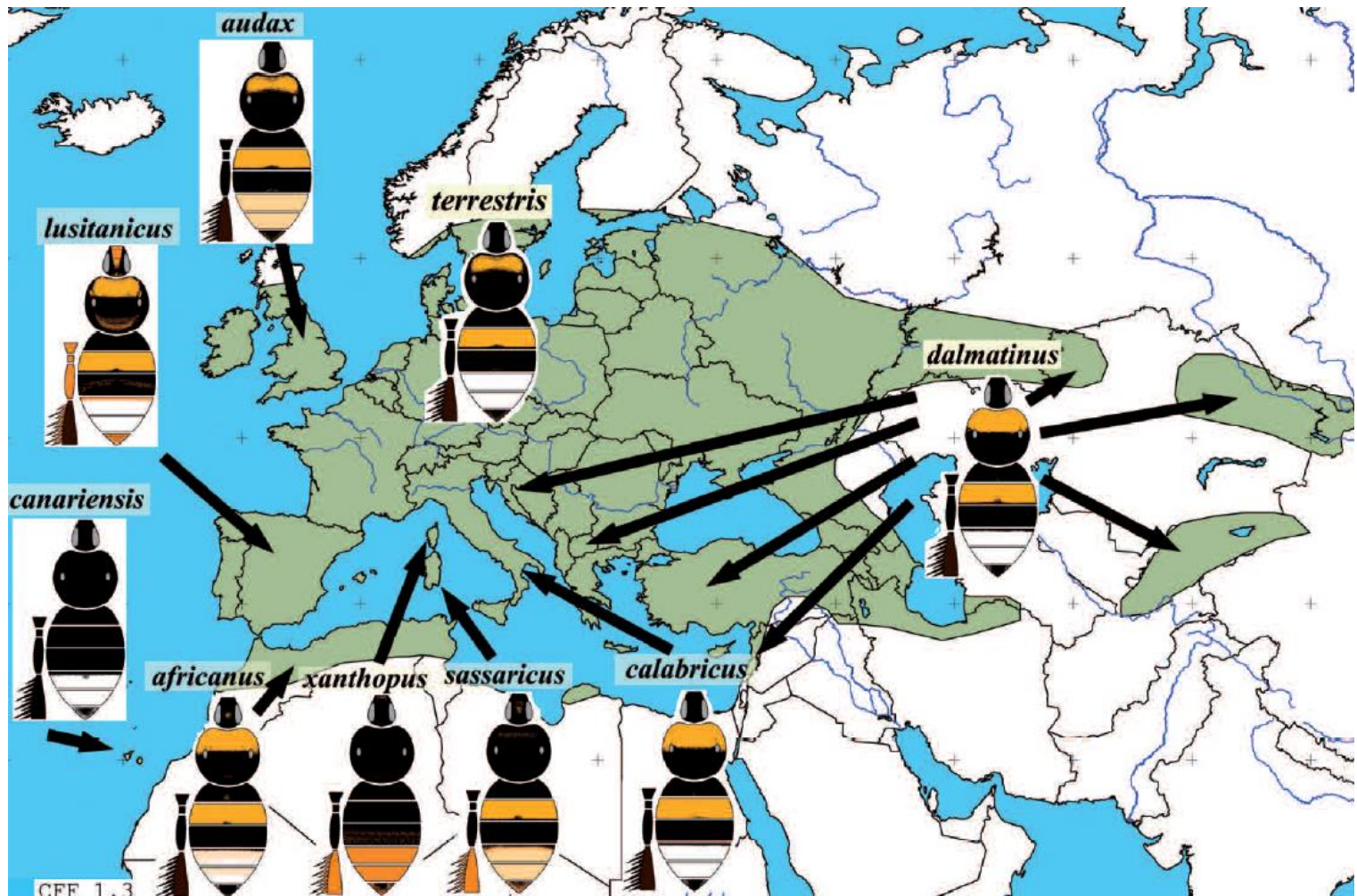


Figura 5 - Distribuição geográfica das subespécies de *Bombus terrestris* e características das riscas. Fonte: (Rasmont, et al., 2008)

Ainda que não seja propriamente um método de identificação de subespécies, crê-se que existam também diferenças entre as subespécies no que toca à sua suscetibilidade a certos fungos, como por exemplo *Nosema* sp (ao qual a subespécie *xanthopus* é especialmente suscetível em comparação com as restantes subespécies) (De Jonghe, 1986). Existem ainda algumas diferenças comportamentais entre as subespécies, nomeadamente: as subespécies *canariensis*, *xanthopus* e *sassaricus* são as mais agressivas; as subespécies *sassaricus*, *lusitanicus* e *dalmatinus* formam colónias maiores; e as subespécies *canariensis* e *sassaricus* são as mais rápidas na coleção de néctar (Chittka, et al., 2004; Ings, et al., 2005; Velthuis & Doorn, 2006). Além das diferenças acima referidas, foram ainda estudadas diferenças na preferência de cor das flores, peso e capacidade de aprendizagem (Chittka, et al., 2004).

De Jonghe (1986) conduziu experiências para testar a possibilidade de cruzamento entre as subespécies e concluiu que em condições de laboratório era possível. Além disso concluiu ainda que também é possível em condições naturais, mas os indivíduos são capazes de se identificar entre si e evitam estes cruzamentos, preferindo um indivíduo da mesma subespécie (De Jonghe, 1986; Rasmont, et al., 2008).

2.4. Ciclo de Vida dos *Bombus terrestris*

O ciclo de vida dos *Bombus terrestris* é anual e inicia-se quando no fim do inverno/início da primavera (é considerada uma espécie precoce no que toca à emergência da diapausa) a rainha termina o período de diapausa, período no qual a rainha esteve em hibernação, normalmente em cavidades no solo. Neste momento a rainha inicia a sua procura por um local adequado para fazer ninho, utilizando normalmente ninhos de roedores ou aves já existentes (Coppée, 2010). Ao contrário de outras espécies (por exemplo do subgénero *Thoracobombus*) os *Bombus terrestris* mostram uma tendência para preferir aninhar abaixo da superfície. Uma vez instalada, a rainha constroi um aglomerado de pólen no qual inicia a postura, pondo inicialmente entre 8 e 16 ovos, mas continua a sair do ninho para coletar pólen e néctar. A rainha cobre os ovos com uma camada de cera misturada com polen e constroi ainda um recipiente na entrada do ninho no qual armazena o néctar. Durante este período a rainha gera muito calor, mantendo a temperatura interna no ninho a um nível adequado para a incubação dos ovos (30-32°C). Os ovos eclodem passados quatro dias e as larvas alimentam-se inicialmente do aglomerado de pólen que a rainha construiu. Nesta fase as larvas constroem células individuais de cera e seda nas quais são alimentadas uma a uma com uma mistura de pólen e nectar regurgitada pela rainha (são considerados “pollen-storers”) (Goulson, 2010). As larvas passam por quatro instars. Ao 10-14º dia entram no instar pupa e cerca de 14 dias depois atingem a última fase, sendo assim o tempo total decorrido entre o instar larva e o instar adulto cerca de 4 a 5 semanas. Nesta fase do ciclo todas as larvas que atingem o instar adulto passam a ser obreiras (fêmeas diploides). A partir deste momento a rainha inibe a produção de ovos por parte das obreiras segregando uma feromona e a sua única função é continuar a pôr ovos (Prys-Jones & Corbet, 2014; Bloch, et al., 1996).

Tendo já a colónia cerca de 300 a 500 indivíduos, surge então passadas algumas semanas um “switch point” no qual a rainha começa a pôr apenas ovos não fertilizados

que irão dar origem a machos (haploides). Neste ponto, perdendo a rainha controlo sobre a produção de ovos por parte das obreiras, estas começam também a pôr ovos, mas uma vez que não são fertilizados, irão também dar origem a machos. Dando seguimento a este “switch point” a rainha inicia a postura de ovos fertilizados que irão dar origem a novas rainhas. Normalmente, quando a colónia entra em produção de machos e futuras rainhas, a produção de obreiras pára. Assim que atinjam o instar adulto as novas rainhas saem do ninho mas voltam a ele, até terem sido fecundadas. Durante este período alimentam-se de pólen e nectar de forma a criarem reservas. Já os machos quando saem do ninho já não voltam, passando o dia a alimentar-se e à procura de uma nova rainha para fecundar, deixando “rastros” de feromonas em locais específicos que durante o dia vão patrulhar. É ainda importante dizer que diferentes espécies utilizam diferentes feromonas e diferentes padrões de patrulha, de modo a que seja mais fácil cada espécie identificar o seu correspondente. Depois de fecundadas, as novas rainhas procuram e/ou escavam um local seguro no qual se colocam e iniciam a sua fase de diapausa. Os machos, por outro lado, cumpriam a sua missão e morrem pouco tempo depois. Um novo ciclo inicia-se com a quebra da diapausa destas novas rainhas no fim do inverno/início da primavera e a procura de novos locais para iniciar novas colónias (Coppée, 2010; Goulson, 2010). De seguida apresenta-se uma imagem do ciclo de vida (figura 6).

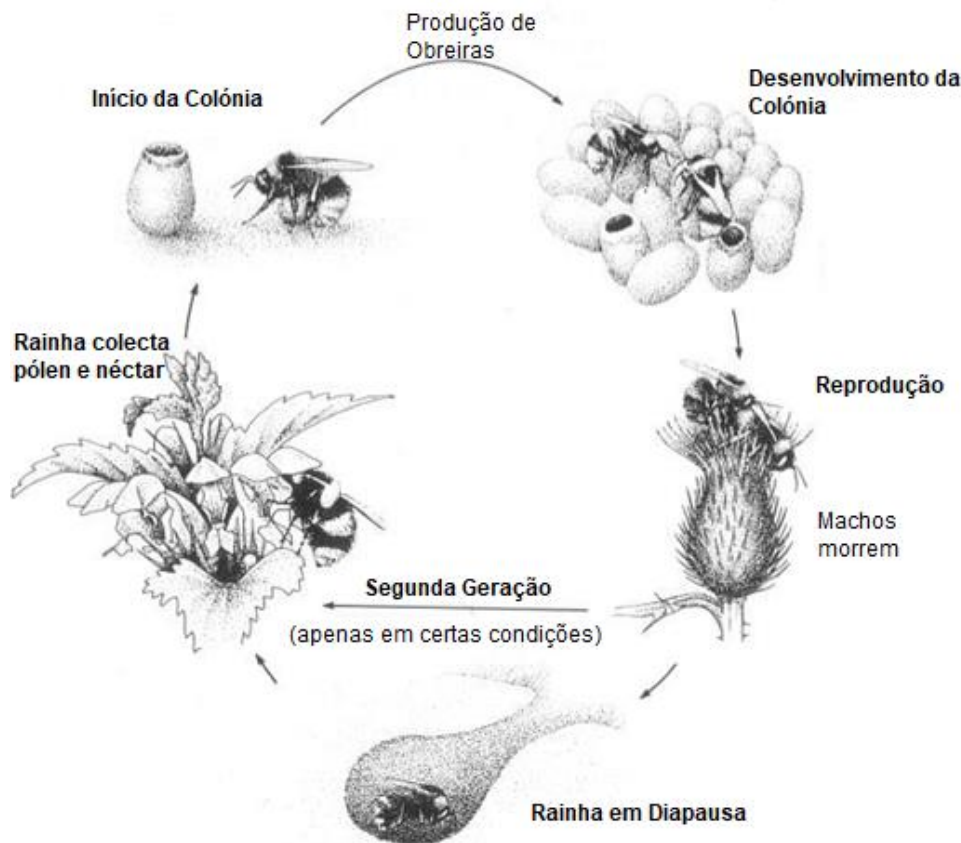


Figura 6 - Ciclo de Vida. Fonte: (adaptados de Bumblebees, s.d.)

2.5. Identificação Morfológica Interespecífica

Uma vez que este trabalho se foca mais na espécie *Bombus terrestris* é importante dizer que além de existirem dificuldades na identificação das suas subespécies, existe ainda uma discussão entre autores sobre quatro espécies supostamente diferentes, mas que se assemelham muito entre elas morfológicamente. Estas espécies são *Bombus terrestris*, *Bombus lucorum*, *Bombus cryptarum* e *Bombus magnus* (figura 7). As três últimas geram polémica dentro da comunidade científica de tal forma que teve que ser criado um grupo chamado complexo-*lucorum*, que engloba estas três espécies, devido às dúvidas que surgem quanto à sua classificação taxonómica (Bossert, 2015). Ainda assim, mais recentemente com o avanço da tecnologia parece ter ficado mais claro que as três seriam espécies distintas. Tal foi concluído em vários estudos com a utilização da tecnologia da sequência de nucleótidos (Bertsch, 2009; Carolan, et al., 2012; Murray, et al., 2008; Bertsch, et al., 2005).

No entanto, para este trabalho, as duas espécies que mais importam são *Bombus terrestris* e *Bombus lucorum*, uma vez que são duas espécies que são utilizadas comercialmente para polinização (Winter, et al., 2006; Velthuis & Doorn, 2006; Rasmont & Iserbyt, 2013) e estão ambas presentes em Portugal (Elisabete Figueiredo, comunicação pessoal, 11 de Julho). Se por um lado a sequência de nucleótidos prova a existência de quatro espécies distintas, já a análise morfológica padece de imensas dificuldades e confusões na literatura, não sendo fácil nem clara a identificação das espécies (Bossert, 2015).



Figura 7 - Semelhanças morfológicas entre as quatro espécies: A - *Bombus cryptarum*; B - *Bombus lucorum*; C - *Bombus magnus*; D - *Bombus terrestris*. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013

De acordo com a professora Elisabete Figueiredo (Instituto Superior de Agronomia), a espécie *Bombus terrestris* é a mais capturada em Portugal. Não existem relatos de *Bombus cryptarum* em Portugal e os que existem de *Bombus lucorum* e *Bombus magnus* são escassos e anteriores a 1990 (Rasmont & Iserbyt, 2013). Ainda assim, e combinando esses dados com a comunicação pessoal da professora Elisabete Figueiredo (Insituto Superior de Agronomia) apenas *Bombus lucorum* e *Bombus terrestris* estão presentes em Portugal, sendo que os últimos estarão presentes em maior número. De seguida apresentam-se quatro imagens com a distribuição destas quatro espécies na Europa (figuras 8, 9, 10 e 11).

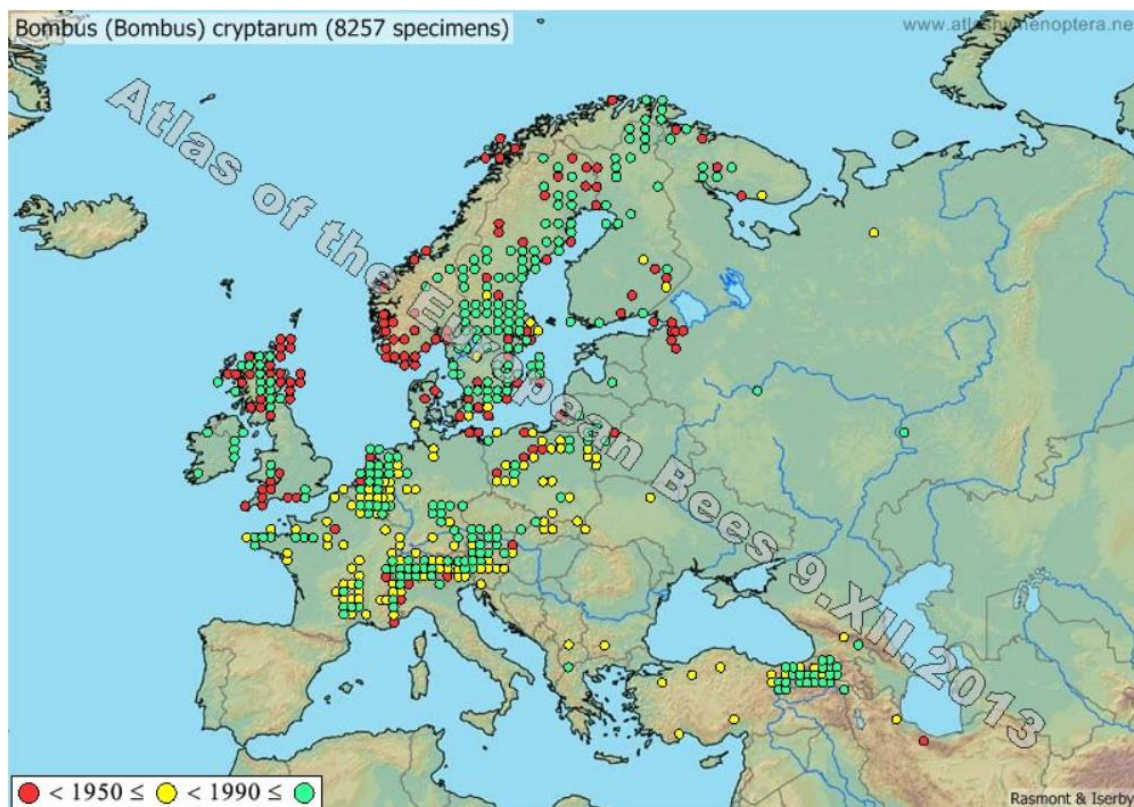


Figura 8 - Distribuição de *Bombus cryptarum* na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013. Fonte: (Rasmont & Iserbyt, 2013)

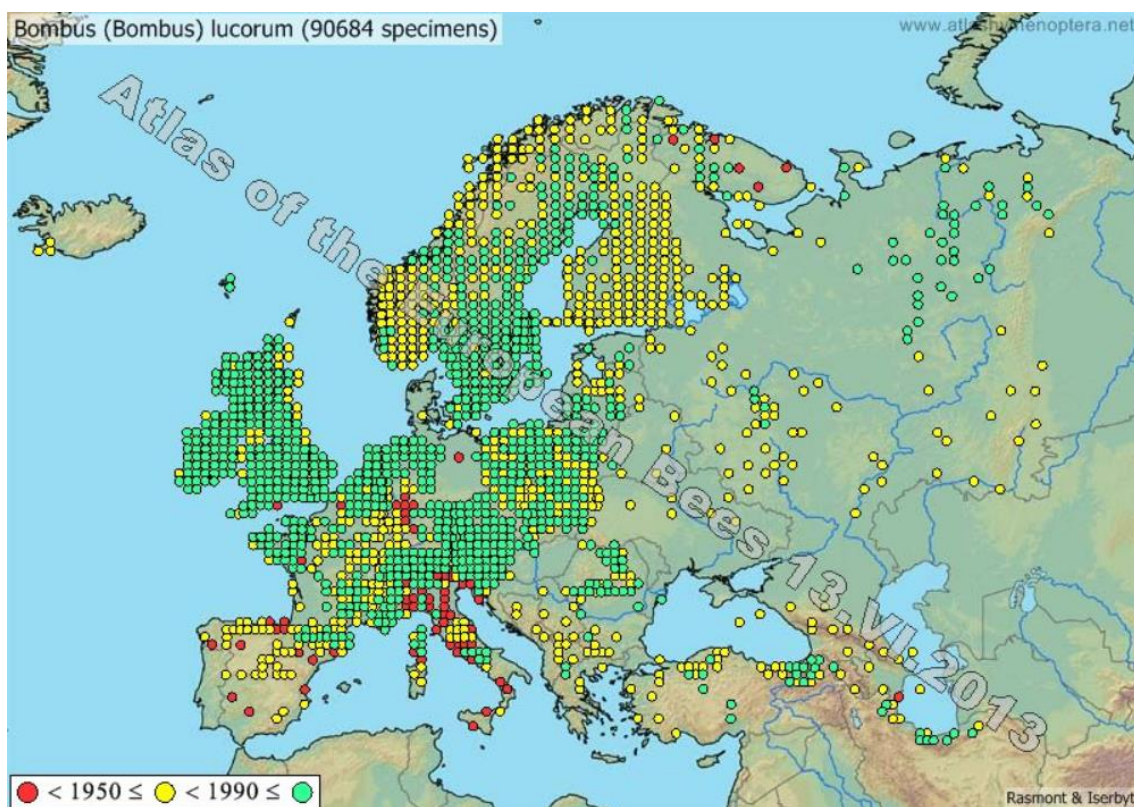


Figura 9 - Distribuição de *Bombus lucorum* na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013

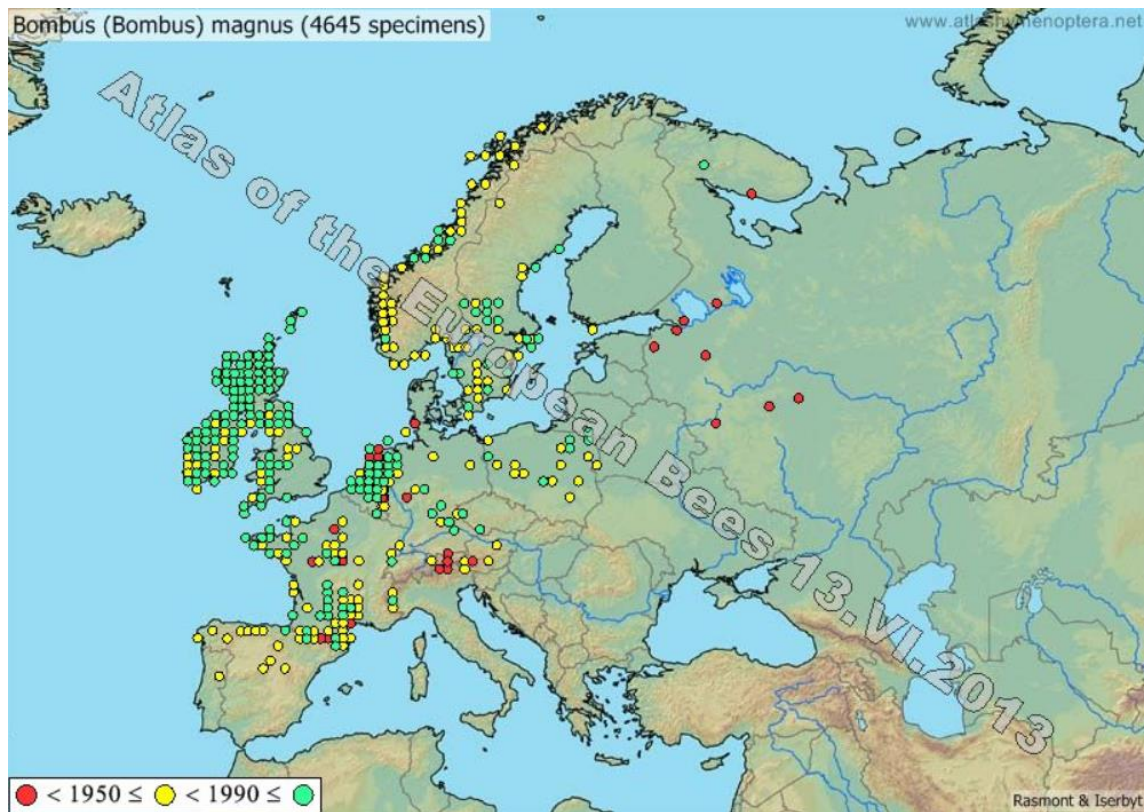


Figura 10 - Distribuição de *Bombus magnus* na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013

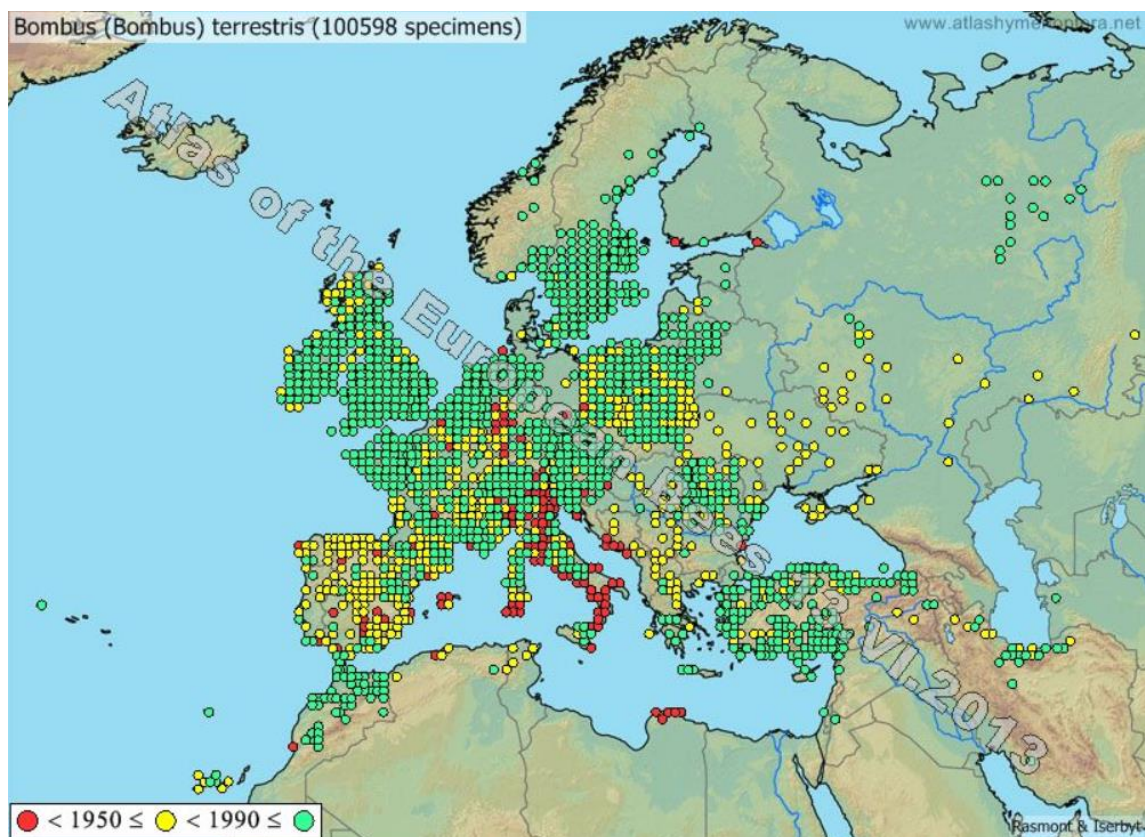


Figura 11 - Distribuição de *Bombus terrestris* na Europa. Fonte: Rasmont & Iserbyt, 2013

2.6. Importância dos *Bombus spp.* na Polinização

A polinização é definida como a transferência de pólen das anteras de uma flor para o estigma da mesma flor ou de outra. A polinização feita pelo vento, água, aves, morcegos, entre outros é muito importante, mas não se deve esquecer a polinização entomófila, isto é, feita por insetos. Este tipo de polinização representa uma grande percentagem da polinização total, colmata algumas lacunas dos tipos mencionados anteriormente e proporciona ainda alguns benefícios (Goulson, 2010). Um destes benefícios é que os insetos realizam a polinização com um nível de qualidade dificilmente atingível por outros tipos de polinização. Um bom exemplo desta maior qualidade na polinização é a polinização de plantas que requerem polinização cruzada, como o *Trifolium spp.*. Nestas plantas o pólen é transferido da flor de uma planta para a flor de outra planta, e os insetos dão assim maior garantia que a polinização aconteça com sucesso do que por exemplo a água ou o vento. Um fator que contribui para isto é o fato de os *Bombus spp.* visitarem uma grande diversidade de plantas como já foi referido previamente (Goulson, 2010). Mesmo em plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*), que não necessitam de polinização cruzada, os insetos são essenciais para libertar o pólen, que não seria fácil de libertar através de outros métodos. Os *Bombus spp.* são especialmente importantes na polinização das flores do tomateiro ou mirtilo, uma vez que com a sua elevada vibração (“Buzz-pollination”) conseguem mais facilmente libertar os grãos de pólen do que outros insetos (Plowright & Lavery, 1987; Comont, 2017).

É evidente e aceite que abelhões, abelhas e outros insetos da ordem *Hymenoptera* correspondem a alguns dos mais importantes polinizadores. Não é um acaso que estes sejam muito importantes na polinização, uma vez que a polinização que fazem está diretamente relacionada com a forma como vivem. Ao contrário de muitos outros insetos, muitas espécies da ordem *Hymenoptera* alimentam os seus descendentes (estado larvar) e a si próprios com néctar (fonte de açúcares e água) e pólen (fonte de proteínas). Este comportamento faz com que espécies como a abelha (*Apis mellifera*) ou o abelhão (*Bombus terrestris*) sejam obrigados a fazer muitas visitas a flores e que estas sejam o mais rentáveis possível, ao contrário de insetos que visitem as flores apenas para se alimentarem a si próprios. O elevado número de visitas a flores torna-os assim nuns dos principais polinizadores (Goulson, 2010).

As abelhas (*Apis mellifera*) têm tido muito crédito enquanto polinizador, mas ao longo dos anos têm-se descoberto e estudado outras alternativas. As abelhas possuem

efetivamente características que fazem delas muito importantes na polinização como o fato de formarem grandes colônias capazes de polinizar vastas áreas cultivadas e produzirem mel. Além disso existe ainda um extenso conhecimento na manutenção de colônias de abelhas (Goulson, 2010). Contudo, existem algumas desvantagens, nomeadamente o fato de as abelhas apenas saírem da colônia para coletar pólen e néctar quando as condições climáticas são favoráveis, não serem capazes de polinizar algumas plantas ou de terem preferência por outras, terem línguas relativamente curtas (impedindo-as de polinizarem certas plantas) e de não serem capazes de vibrar (impossibilitando a polinização de algumas plantas). Tais desvantagens fazem com que a abelha visite menos plantas, seja por não serem capazes de as polinizar ou por preferência. Contrariamente ao caso das abelhas, os abelhões saem da colônia com condições climáticas mais adversas, têm uma língua maior, não têm preferência na escolha das flores e são capazes de fazer polinização por vibração (Chittka, et al., 2004; Coppée, 2010; Goulson, 2010; Rasmont, et al., 2008; Willmer, et al. 1994).

2.7. Domesticação de *Bombus spp.*

Atualmente as espécies *Bombus terrestris* (originária da Eurásia) e *Bombus impatiens* (originária da América do Norte) são as principais no que toca ao uso comercial de insetos polinizadores de culturas, mas para atingir este nível foi necessário um grande desenvolvimento nas técnicas de domesticação e criação (Velthuis & Doorn, 2006). Uma das primeiras pessoas interessadas neste tema foi F. W. L. Sladen, que em 1912 publicou “The Humble-bee – Its life-history and how to domesticate it”. Sladen capturou colônias na sua fase inicial e rainhas após o seu período de hibernação e colocou-as em caixas de diferentes formas, tentando que essas colônias e/ou rainhas fizessem das caixas os seus ninhos. De certa forma pioneiro, mas muito importante, o trabalho de Sladen (1912) aborda tópicos como a atração de rainhas para ocupação de ninhos artificiais, a forma através da qual se conseguiria fazer com que uma rainha confinada num espaço começasse a pôr ovos dando início a uma geração e domesticação total. Com estas experiências Sladen desenvolveu várias técnicas práticas: colocar as rainhas num espaço escuro e confinado por algum tempo após a captura e/ou colocar mel e pólen dentro das caixas poderia garantir mais sucesso na iniciação da colônia; colocar duas rainhas juntas levaria a um comportamento agressivo que levaria à morte de uma rainha e posteriormente a que a outra rainha começasse a

pôr ovos; colocar algumas obreiras (Sladen experimentou diferentes espécies e números de obreiras) junto da rainha incentivava a que a rainha começasse a pôr ovos. Além disso, Sladen concluiu que as maiores dificuldades na domesticação de abelhões eram o controlo da reprodução e da hibernação, dificuldades estas que estava certo que poderiam ser ultrapassadas (Velthuis & Doorn, 2006).

Seguindo as passadas de Sladen e adicionando outras técnicas, surgiram outros interessados que se debruçaram sobre o tema da domesticação de várias espécies de abelhões. Entre eles estão Free and Butler (1959), Bornus (1975) e H.-H. von Hagen e E. von Hagen (1986), sendo que os dois últimos descreveram os seus 30 anos de experiência domesticando mais de 15 espécies de abelhões na europa central (Velthuis, 2002). Se na primeira metade do século XX as colónias domesticadas eram deixadas à sua própria mercê no campo e alimentavam-se de vegetação natural, por outro lado na segunda metade do século XX os investigadores começaram a colocar as colónias em estufas com alimentação mais adequada, o que possibilitou que uma grande parte das rainhas acabadas de sair de hibernação aceitasse estas condições e iniciasse o seu ciclo. Por forma a garantir que no fim do ciclo as rainhas entrariam em hibernação num espaço confinado, eram colocados tabuleiros com terra e turfa para que uma vez fertilizadas as rainhas pudessem hibernar. Foi então que Horber, em 1961, publicou um relatório sobre um sistema contínuo de “criação” de abelhões. Horber descobriu que após a fecundação as rainhas de *Bombus hypnorum* poderiam ser induzidas a iniciar uma colónia uma vez introduzidas numa “sala de criação” com iluminação artificial e aumentando a temperatura (variando entre 30 e 35.5° C). O mesmo método foi utilizado por Horber em rainhas que tinham hibernado durante pouco tempo. Este último método foi também utilizado por Plowright and Jay em 1966 em rainhas da espécie norte americana *Bombus rufocinctus* (após um período de hibernação de 4 semanas) e Röseler em 1977 em rainhas das espécies europeias *Bombus terrestris* e *Bombus hypnorum* (com um período mínimo de hibernação de 6 semanas) (Velthuis & Doorn, 2006).

2.8. Criação para Uso Comercial e Uso Comercial

No fim do século XIX e início do século XX foram introduzidos abelhões de espécies britânicas na Nova Zelândia para polinização de trevo. Tomava forma então o conceito de uso comercial de colónias de insetos para polinização. Os resultados

mostraram um aumento considerável na produção de semente. Mais recentemente, espécies como *Bombus ruderatus* e *Bombus terrestris* foram exportadas com sucesso da Nova Zelândia para o Chile, onde se estabeleceram, sendo que o *Bombus ruderatus* se espalhou para a Argentina (Prys-Jones & Corbet, 2014; Abrahamovich, et al., 2001).

Foi então que em 1987 foi fundada a primeira empresa para criação e uso comercial de abelhões para polinização das culturas, a Biobest. A Biobest foi fundada pelo belga Dr. De Jonghe após ter descoberto o potencial valor do uso de *Bombus terrestris* na polinização de tomate em estufa, verificando que seria mais rentável do que polinização manual, técnica utilizada na altura. No ano seguinte a empresa holandesa Koppert Biological Systems, focada na luta biológica, seguiu o exemplo e iniciou também a produção comercial de abelhões para polinização. Além destas, surgiu ainda em 1989 a empresa holandesa BBB (Bunting Brinkman Bees), que também se especializou no tema. O mercado atual, embora tenha vários produtores a nível mundial, é dominado pelas três acima referidas, que possuem infraestruturas em vários países e continentes. De forma a mostrar a rápida evolução deste mercado nos seis anos iniciais de produção de abelhões para uso comercial, de seguida apresenta-se um gráfico da percentagem de estufas de tomate holandesas que utilizavam abelhões como método de polinização (figura 12) (Velthuis & Doorn, 2006).

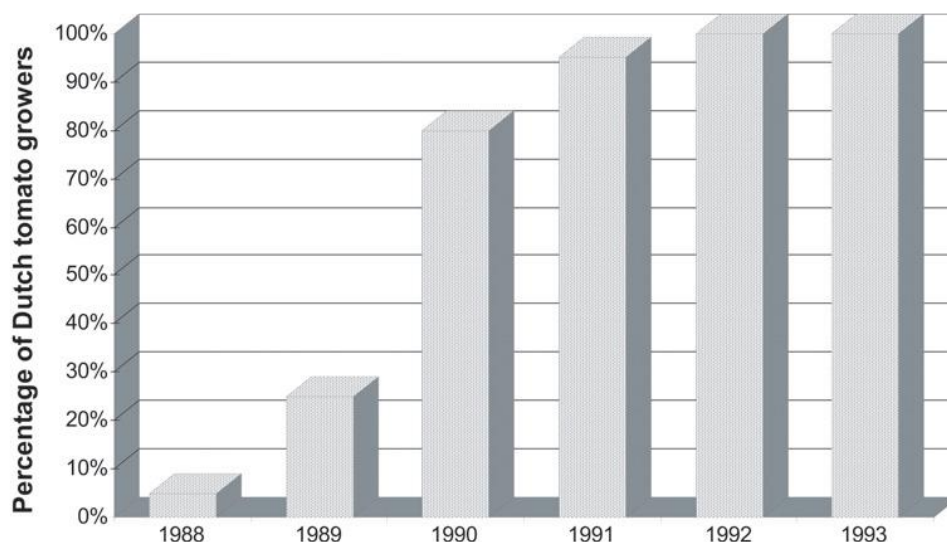


Figura 12 - Uso de abelhões para polinização em estufas de tomate holandesas desde o início da produção de abelhões para uso comercial. Fonte: (Velthuis & Doorn, 2006)

Velthuis & van Doorn (2006) nomearam quatro fatores que contribuíram para o rápido crescimento deste mercado: a polinização de plantas de tomate por abelhões na Holanda e na Bélgica em 1988 já era mais barata do que a polinização mecanizada; os

abelhões têm uma maior facilidade no acesso aos grãos de pólen das flores de tomate em comparação com outros insetos; a polinização por abelhões leva a uma maior qualidade do fruto e aumento da produtividade geral e consequentemente a um melhor preço; a diminuição do uso de pesticidas e uso de alternativas mais amigas do ambiente.

A diferença de custos entre a polinização por abelhões e a polinização mecanizada foi um fator crucial, Velthuis & van Doorn (2006) citam dois estudos para sustentar este argumento. Den Bogaard (1991) demonstrou que a polinização por abelhões naquela época custaria 9100€ por ha por ano enquanto que Ravenstein & Nederpel (1988) chegaram à conclusão que a polinização mecanizada custaria 10000€ por ha por ano.

Quanto à facilidade que os abelhões têm em polinizar as flores de tomateiro, esta deve-se à sua capacidade de se fixarem às anteras com as mandíbulas e vibrarem os seus músculos das asas libertando assim o pólen (Velthuis & Doorn, 2006). Quando se fixam nas anteras com as mandíbulas os abelhões deixam uma marca castanha, o que faz com que sejam facilmente monitorizadas as visitas que estes fazem às flores (Morandin et al., 2001a,b).

O terceiro fator pode justificar-se pelo facto de os abelhões visitarem as flores no momento fisiológico adequado, podendo a flor emitir um odor que ajuda o abelhão a identificar que flores estão prontas para a polinização (Velthuis & Doorn, 2006). Assim sendo, este tipo de polinização tem vantagem sobre a polinização mecanizada, uma vez que esta era feita toda de uma vez, o que poderia levar a uma polinização num momento fisiológico menos adequado (Velthuis & Doorn, 2006).

De seguida apresenta-se uma tabela com algumas das espécies utilizadas comercialmente (tabela 3):

Tabela 3 - Espécies de Abelhões utilizadas comercialmente para polinização (Fonte: adaptado de Velthuis & van Doorn (2006))

	Espécie	Origem	Onde é utilizado
Sub-género <i>Bombus</i>	<i>B.terrestris</i> L.	Europa; Norte de África; Oeste da Ásia	Europa; Norte de África; Ásia; Austrália; América do Sul
	<i>B.terrestris canariensis</i> Pérez	Ilhas Canárias	Ilhas Canárias
	<i>B.lucorum</i> L.	Europa; Ásia	Este da Ásia
	<i>B.ignitus</i> Smith	Este da Ásia	Este da Ásia
	<i>B.occidentalis</i> Green	Oeste da América do Norte	Oeste da América do Norte
Sub-género <i>Pyrobombus</i>	<i>B.impatiens</i> Cresson	Este da América do Norte	América do Norte

2.9. Ameaças ao Equilíbrio dos Ecossistemas por Introdução de Colmeias Comerciais de *Bombus terrestris*

Devido à sua capacidade de adaptação e à facilidade de criação comercial, o *Bombus terrestris* tornou-se rapidamente num dos mais utilizados polinizadores em todo o mundo, no entanto levou também a que pouca consideração fosse tida pelas possíveis consequências da introdução de uma nova espécie em locais nos quais esta não é nativa (Dafni, et al., 2010; Velthuis & Doorn, 2006). Os abelhões saem das estufas onde são colocados (Goulson, 2010), prova disso é a existência de populações selvagens de *Bombus terrestris* no Japão (Inari, et al., 2005), onde não é nativo, e ainda o facto de no Canadá, Whittington et al. (2004) terem provado que 73% do pólen carregado por obreiras era originário de plantas fora da estufa onde se encontravam. O *Bombus terrestris* aparenta de facto possuir características que o tornam numa possível espécie invasora de sucesso, nomeadamente: grande capacidade de dispersão; espécie eusocial; emergência precoce e ciclo longo; generalista no que toca à preferência floral; resistência a condições ambientais; livre de agentes patogénicos, parasitas e

predadores; grande capacidade de reprodução; capacidade de percorrer grandes distâncias; flexibilidade quanto à escolha de locais de nidificação (Dafni, et al., 2010).

Grande capacidade de dispersão: os *Bombus terrestris* possuem uma grande capacidade de dispersão devido às grandes distâncias que percorrem. Segundo Hopkins (1914) (citado em Dafni, et al., 2010) na Nova Zelândia os *Bombus terrestris* foram capazes de conquistar 90km/ano; já Hingston et al. (2002) verificaram uma velocidade de dispersão de 25km/ano na Tasmânia, tendo ocupado 30000 km².

Espécie eusocial: o facto de se tratar de uma espécie eusocial garante ao *Bombus terrestris* uma melhor comunicação e organização na procura de flores a visitar em comparação com as espécies nativas, que são maioritariamente solitárias e procuram as flores por tentativa-erro (Dornhaus, et al., 2003).

Emergência precoce e ciclo longo: as rainhas de *Bombus terrestris* que terminam a diapausa emergem cedo na primavera em comparação com outras espécies, tendo sido registadas rainhas em todos os meses do ano exceto janeiro (Goulson, et al., 2002; Sladen, 1912; Prys-Jones & Corbet, 2014; Matsumura, et al., 2004; Ings, et al., 2005; Inoue, et al., 2008). Além disso têm longos períodos de atividade e começam mais cedo e terminam mais tarde no dia a sua atividade em comparação com outros polinizadores. A combinação destes fatores pode levar ao esgotamento dos recursos (pólen e néctar) antes que outras espécies de *Bombus* tenham sequer nidificado (Goulson, 2010; Inari, et al., 2005).

Generalista no que toca à preferência floral: como referido anteriormente, o *Bombus terrestris* é generalista no que diz respeito à preferência floral, ou seja, tem a capacidade de utilizar uma vasta gama de flores para se abastecer de pólen e néctar, quer seja no seu habitat (Goulson, 2010) ou nos locais onde não é nativo (Dafni & Shmida, 1996; Semmens, 1998; Matsumura, et al., 2004; Goulson & Hanley, 2004). Além de ser generalista, tem ainda a capacidade de aprender a manipular e explorar flores mais complexas (Stout, et al., 1998). O *Bombus terrestris*, não só tem a capacidade de utilizar flores diferentes, como também é capaz de roubar néctar (“nectar robbing”), perfurando a corola das flores com as suas mandíbulas e sugando o néctar (Matsumura, et al., 2004; Stout, et al., 2000; Dohzono, et al., 2008).

Resistência a condições ambientais: assim como todas as espécies pertencentes ao género *Bombus*, também o *Bombus terrestris* é capaz de regular a sua temperatura por termorregulação, o que lhe permite suportar temperaturas baixas (Goulson, 2010) e estar ativo durante o inverno em regiões mais quentes do que a sua

região nativa, como por exemplo no Chile (Ruz, 2002) ou na Nova Zelândia (Donovan & Wier, 1978).

Livre de agentes patogénicos, parasitas e predadores: espécies que são invasoras fora da sua região nativa terão à partida poucos ou nenhuns inimigos naturais que possam controlar o crescimento da sua população (Buttermore, 1997; Goka, 2010).

Grande capacidade de reprodução: no seu habitat natural, o *Bombus terrestris* possui apenas um ciclo reprodutivo por ano (Prys-Jones & Corbet, 2014), mas numa região recentemente colonizada poderá ter duas gerações por cada ciclo (Ings, et al., 2005), como por exemplo na Nova Zelândia (Donovan & Wier, 1978) ou na Tasmânia (Buttermore, 1997; Hingston, et al., 2002). Além disso, as colónias comerciais de *Bombus terrestris* produzem mais rainhas do que as populações naturais, o que pode levar a números mais elevados de populações provenientes de colónias comerciais do que de populações naturais (Ings, et al., 2006, na Grã-Bretanha).

Capacidade de percorrer grandes distâncias: vários autores obtiveram diferentes resultados para as distâncias percorridas pelas obreiras de *Bombus terrestris*, nomeadamente: 1500m (Osborne, et al., 2008); 1750m (Walther-Hellwig & Frankl, 2000); 4km (Goulson & Stout, 2001; Inari, et al., 2005). Além destes, Dafni and Shmida (1996) encontraram pólen de plantas cultivadas em *Bombus terrestris* a uma distância de 5km do jardim mais próximo.

Flexibilidade quanto à escolha de locais de nidificação: uma vez que o *Bombus terrestris* é uma espécie com uma grande capacidade de adaptação e aceita facilmente ninhos artificiais (Matsumura, et al., 2004; Prys-Jones & Corbet, 2014) será de prever que este seja menos suscetível do que outras espécies às limitações no número de possíveis locais de nidificação (Matsumura, et al., 2004). Além disso as rainhas de *Bombus terrestris* podem invadir ninhos de outras espécies de *Bombus* (Sladen, 1912; Inoue, et al., 2008; Matsumura, et al., 2004)..

Tendo em conta todas estas características que fazem do *Bombus terrestris* uma espécie potencialmente invasora, existem diversos perigos para o equilíbrio dos ecossistemas, sendo que os principais e mais estudados são: competição por recursos florais; competição por locais de nidificação; poluição genética; transmissão de parasitas ou agentes patogénicos; alterações na flora nativa; polinização de infestantes não nativas (Goulson, 2010). De seguida serão explicados mais com mais detalhe cada um destes perigos, sendo dados alguns exemplos como prova.

Competição por recursos florais: para que haja competição pelos recursos florais é necessário que exista sobreposição entre os potenciais competidores, isto é, visitarem as mesmas plantas e fazê-lo no mesmo período. Tendo em conta que a dieta de *Bombus* ou outros insetos polinizadores (maioritariamente da família *Apidae*) estará normalmente centrada em néctar e pólen, então é espectável que a sobreposição exista (Michener, 1974, citado por Goulson, 2010). Adicionando o facto de que os *Bombus terrestris* estão ativos durante a primavera e o verão e que visitam flores durante o dia, começando a atividade antes e terminando depois da maioria das espécies nativas, então é muito provável que exista competição pelos recursos (Goulson, 2010; Corbet, et al., 1993). Tal competição também pode acontecer entre subespécies, e um exemplo disso foi estudado por Ings et al. (2006), que comparou no Reino Unido a performance de ninhos de *Bombus terrestris audax* (nativa no Reino Unido) e *Bombus terrestris dalmatinus* (importada) e verificou que as obreiras de *Bombus terrestris dalmatinus* eram maiores, traziam mais néctar para o ninho e produziam mais rainhas. Outras características (referidas acima) que proporcionam ao *Bombus terrestris* uma vantagem nesta competição podem ser a emergência precoce, o facto de ser uma espécie social e a capacidade de percorrer grandes distâncias (Goulson, 2010). Uma espécie invasora que esteja em vantagem poderá causar a diminuição do número de indivíduos de outra espécie ou até a extinção (Mack, et al., 2000).

Competição por locais de nidificação: emergindo mais cedo no ano do que outros *Bombus*, o *Bombus terrestris* ocupa locais de nidificação antes que outras espécies o possam fazer. Além disso, as rainhas de *Bombus terrestris* são capazes de invadir ninhos já ocupados por outras espécies (Inoue, et al., 2008; Matsumura, et al., 2004; Sladen, 1912). Inoue, et al. (2008) verificaram que existia competição por locais de nidificação entre as espécies nativas do Japão *Bombus hypocrita* e *Bombus tersatus* e a espécie introduzida *Bombus terrestris*, e além disso a invasão de *Bombus terrestris* coincidiu com a diminuição do número de indivíduos de *Bombus hypocrita*.

Poluição genética: o cruzamento entre subespécies de *Bombus terrestris* provou-se possível em laboratório, mas tal não significa que o mesmo se verifique na natureza (Ings, et al., 2005; Rasmont, et al., 2008). Desta forma, o transporte de *Bombus terrestris* para locais onde diferentes subespécies existam poderá levar à perda da genética de raças nativas de certas regiões por cruzamento entre elas e também à perda de diversidade genética da espécie. Além disso corre-se o risco de homogeneizar a espécie com uma genética proveniente dos indivíduos criados comercialmente, que são todos mais semelhantes (Prys-Jones & Corbet, 2014; Goulson, 2010). Cruzamento entre espécies diferentes também se provou ser possível. No Japão cerca de 30% das

rainhas da espécie nativa *Bombus hypocrita* copulam com machos de *Bombus terrestris*. Os ovos originados desse cruzamento não são viáveis, no entanto este cruzamento é prejudicial para a reprodutividade da espécie nativa, tornando a rainha estéril (Kanbe, et al., 2008; Kondo, et al., 2009).

Transmissão de parasitas ou agentes patogénicos: o conhecimento sobre que agentes patogénicos ou parasitas infetam espécies como os *Bombus spp.* entre outras é bastante limitado, e menos ainda é sabido sobre a suscetibilidade de organismos nativos a agentes patogénicos ou parasitas exóticos provenientes de espécies introduzidas (Goulson, 2010). Assim sendo, este é um problema muito grave, ainda assim, é extremamente provável que estejamos constantemente a transportar agentes patogénicos e parasitas para novas regiões ao transportar colónias comerciais de *Bombus terrestris* (Goulson, 2010). Mais grave ainda é o facto de estes transportes se terem iniciado há já certa de três décadas, quando o conhecimento sobre este assunto era ainda mais reduzido. Foi dessa forma que agentes como *Nosema apis* ou *Varroa destructor* se tornaram quase banais na espécie *Apis mellifera*, quase sem que se desse conta (Goulson, 2010). Existem estudos que relatam a presença de um nematode parasítico e três espécies de ácaros provenientes do Reino Unido dos quais os abelhões na Nova Zelândia são hospedeiros (Donovan, 1980). Estudos no Japão em 2001 demonstraram que *Bombus terrestris* importados da Holanda estavam infestados com *Locustacarus buchneri*, e que ainda que este ácaro esteja presente no Japão, a raça europeia é geneticamente diferente (Goka, et al., 2001). Já em 2006 a presença de *Locustacarus buchneri* foi confirmada em espécies Japonesas, o que comprova que o transporte de *Bombus terrestris* levou à infestação de espécies nativas do Japão (Goka, et al., 2006).

Alterações na flora nativa: para que a polinização das plantas seja eficiente, a evolução proporcionou uma combinação entre plantas e respetivos polinizadores em termos morfológicos, e quando esta relação não é respeitada a eficiência diminui (Ramsey, 1988; Burd, 1994). Os *Bombus terrestris* podem agir como parasitas florais, uma vez que caso não sejam capazes de visitar normalmente a planta, são capazes de roubar néctar perfurando a corola das flores, acabando por não polinizar (Inouye, 1983; Inouye, 1980). Ao roubar o néctar, as flores tornam-se menos atrativas para outros polinizadores, o que diminuirá o número de visitas às flores e consequentemente uma redução na criação de sementes (Irwin & Brody, 1999; McDade & Kinsman, 1980; Roubik, 1982; Roubik, et al., 1985).

Polinização de infestantes não nativas: como generalistas que são os *Bombus terrestris* visitam um grande número de plantas, mas parecem ter preferência por plantas não nativas aos locais onde são introduzidos (Goulson, 2010). Na Tasmânia 83,5% das visitas feitas por *Bombus terrestris* foram a espécies introduzidas (Goulson, et al., 2002) e na Nova Zelândia das 400 plantas que os *Bombus terrestris* visitaram, apenas 19 eram nativas (Goulson & Hanley, 2004). Num local dominado por infestantes europeias na Tasmânia abelhas e abelhões não nativos representaram 98% das visitas a estas infestantes (Goulson, 2010) e infestantes como *Lupinus arboreus* que, que estavam controladas, têm tido um aumento considerável que se pode vir a tornar problemático (Stout, et al., 2002).

De seguida apresenta-se uma tabela com vários locais nos quais os perigos acima referidos já foram estudados e provados e os respetivos estudos (Tabela 4).

Tabela 4 - Países nos quais a introdução de *Bombus terrestris* provocou alterações no ecossistema e respetivos trabalhos que o comprovam (Fonte: adaptado de Dafni, et al., 2010)

Locais	Ameaça	Bibliografia
Nova Zelândia	Polinização de Infestantes	(Goulson & Hanley, 2004)
	Grande capacidade de dispersão	(Macfarlane, 1995)
	Competição por ninhos e recursos florais	(Donovan, 1980)
	Atividade durante o inverno	(Donovan & Wier, 1978)
Austrália	Polinização de infestantes	(Hingston, 2005)
	Alterações na flora nativa	(Hingston & McQuillan, 1998)
Tasmânia	Polinização de Infestantes	(Hingston, 2006)
	Grande capacidade de dispersão	(Buttermore, 1997)
	Competição por recursos florais	(Stout, et al., 2002)
	Grande capacidade de reprodução	(Hingston, et al., 2006)
	Competição por recursos florais	(Hingston, et al., 2002)
	Competição por recursos florais	(Goulson, et al., 2002a)
	Competição por recursos florais	(Goulson, et al., 2002b)

	Grande capacidade de dispersão	(Semmens, et al., 1993)
	Grande capacidade de dispersão	(Stout & Goulson, 2000)
Israel	Competição por recursos florais	(Dafni & Shmida, 1996)
	Competição por recursos florais	(Dafni, 1998)
Japão	Roubo de néctar	(Dohzono, et al., 2008)
	Competição por locais de nidificação e recursos florais	(Inoue, et al., 2008)
	Transmissão de parasitas ou agentes patogénicos	(Goka, et al., 2001)
	Cruzamento com outras espécies de <i>Bombus</i>	(Kanbe, et al., 2008)
	Transmissão de parasitas ou agentes patogénicos	(Goka, 2010)
	Competição por recursos florais	(Inari, et al., 2005)
	Competição por ninhos e recursos florais	(Matsumura, et al., 2004)
	Cruzamento com outras espécies de <i>Bombus</i>	(Kondo, et al., 2009)
	Transmissão de parasitas ou agentes patogénicos	(Goka, et al., 2006)
Chile	Atividade durante o inverno	(Ruz, 2002)
	Transmissão de parasitas ou agentes patogénicos	(Pérez, 2013)
Argentina	Grande capacidade de dispersão	(Geslin & Morales, 2015)
EUA	Transmissão de parasitas ou agentes patogénicos	(Winter, et al., 2006)

Torna-se claro que devem ser tomadas algumas medidas no que diz respeito à regulação das exportações/importações de polinizadores (e neste caso principalmente de *Bombus terrestris*), ainda assim o tráfego continua (Dafni, et al., 2010). Algumas medidas serão apresentadas de seguida:

- Os benefícios da importação de polinizadores para cada país devem ser avaliados tendo em conta parâmetros ambientais, sociais e económicos (Dafni, et al., 2010);

- Uma condição obrigatória deverá ser uma análise do impacto potencial da introdução de uma espécie nova (Ings, et al., 2006);

- A falta de polinizadores nativos com potencial para criação comercial no país em questão deverá ser provada. É fortemente recomendada a criação comercial de espécies (ou subespécies) nativas ao invés da importação de espécies (ou subespécies) exóticas. Foi provado por Morandin et al (2001a, b) o potencial de domesticação de vários *Bombus spp.* no Canadá e Asada and Ono (1996) no Japão; *Xylocopa* em Israel (Sadeh, et al., 2007) e na Austrália (Hogendoorn, et al., 2000); *Amegilla* na Austrália (Bell, et al., 2006; Hogendoorn, et al., 2007).

- Caso as medidas anteriores recomendem a importação de um polinizador, então legislações deverão ser criadas no sentido de controlar a sanidade do polinizador. Sistemas de quarentena e inspeção deverão ser implementados pelo país importador (Dafni, et al., 2010).

- Estufas deverão ser desenhadas de modo a que não seja possível que os polinizadores introduzidos escapem, nomeadamente com condicionamento mecânico (tamanho da entrada na colónia de modo a restringir a saída da rainha, impedindo o seu cruzamento com outra espécie no exterior) (Ings, et al., 2006) (Yoneda, et al., 2007) ou controlo por tratamento hormonal ou retenção/destruição dos polinizadores após terem servido o seu efeito (Dafni, et al., 2010).

3. Materiais e Métodos

3.1. Captura e identificação de *Bombus terrestris* na natureza

3.1.1. Material

O material utilizado para a captura de indivíduos de *Bombus terrestris* na natureza foi: borboleteiro, frascos com tampa, termómetro, compressas de algodão, éter, suporte para registo, máquina fotográfica, placa de Petri, paquímetro e lupa de bolso.

3.1.2. Metodologia

Observação e captura semanal de *Bombus terrestris*. – as capturas e observações foram efetuadas nos Jardins do Palácio de Cristal na cidade do Porto, em plantas em floração. A frequência das capturas foi semanal, preferencialmente na hora em que a temperatura é adequada à atividade dos *Bombus terrestris* nas flores (Inverno: pelas 12 horas; Verão: início da manhã ou fim da tarde. Caso no momento da captura estivesse a chover ou outra condição que impeça os indivíduos de voar se verificasse, procedia-se à captura assim que possível no mesmo dia ou num dos dias seguintes. A captura foi individual, colocando o borboleteiro por cima do local onde o indivíduo se encontrasse e esticando a rede do borboleteiro na vertical, uma vez que o indivíduo tem a tendência de subir. De seguida o exemplar era colocado num frasco cuja tampa (com uma compressa de algodão a si colada) foi previamente embebida com éter. Uma vez morto o exemplar, este era colocado numa placa de Petri e procedia-se à medição com paquímetro do comprimento e largura e à observação à vista desarmada e também com lupa de bolso, por forma a observar as características das riscas, presença de corbícula e ferrão, tentando identificar a espécie/subespécie e a casta (rainha, obreira ou macho). Por fim o exemplar era fotografado (assim como o local/flores em que se encontrava) e colocado num frasco identificado com nome, data e local e era armazenado num congelador. Os registos efetuados foram o local, planta (ou plantas) em floração onde foi efetuada a captura, dia, hora do dia, temperatura do ar, comprimento, largura, espécie e casta. No caso de não serem observados *Bombus*, a procura continuaria por

mais 30 minutos, findo este período, seria suspensa a procura, sendo retomada mais tarde nesse dia ou no dia seguinte.

3.2. Identificação de *Bombus spp.* em laboratório

3.2.1. Material

O material utilizado em laboratório para a identificação foi: lupa binocular (Motic) com software para medição (Nikon SMZ1000), pinça e caixa de petri.

3.2.2. Metodologia

Os indivíduos foram colocados numa caixa de petri e manuseados com uma pinça, tendo sido posteriormente colocados na lupa para análise das características morfológicas. Todos os indivíduos foram posteriormente medidos com as ferramentas de medição do software da lupa binocular. A medição do comprimento foi feita desde a ponta do abdómen até à ponta da cabeça com o indivíduo fixo numa esponja/esferovite com um alfinete. Já a medição da largura é feita ao nível do tórax, na zona mais larga.

Para identificação do género, espécie e castas foram utilizadas várias chaves dicotómicas, sendo elas:

- “Key to the genera of British bees”, de Graham Collins, presente no livro “An Introduction to Bees in Britain” da sociedade de entusiastas da divisão *Aculeata* (que faz parte da ordem *Hymenoptera*) denominada BWARS (The Bees, Wasps and Ants Recording Society) (Bees, Wasps, & Ants Recording Society, 2012);

- “Key to the Highland species”, presente no livro “Highland Bumblebees: Distribution, Ecology and Conservation” de Murdo Macdonald & Gill Nisbet (Macdonald & Nisbet, 2006);

- Chave presente no livro “Field Guide to the Bees of Great Britain and Ireland”, de Steven Falk (Falk, 2015);

- Chaves presentes no livro “Bumblebees”, de Oliver E. Prys-Jones & Sarah A. Corbet (Prys-Jones & Corbet, 2014).

Nestas chaves dicotómicas observam-se características morfológicas como as características das asas e células das asas, número de segmentos nas antenas, número de tergitos no abdómen, presença de ferrão, presença de corbícula, presença e cor de pelos e bandas, tamanho, cor do integumento e cor dos pelos nas tergitos posteriores.

Foi ainda realizada uma deslocação ao Instituto Superior de Agronomia em Lisboa no dia 11 de junho para comparação de exemplares de coleção e voltou a realizar-se a identificação dos indivíduos capturados com a supervisão da professora Elisabete Figueiredo (Instituto Superior de Agronomia), por forma a confirmar as identificações anteriormente feitas.

4. Resultados e Discussão

4.1. Nota Prévia

Informa-se o leitor que no início deste trabalho o método utilizado previa que fossem capturados dez indivíduos por semana e os mesmos deviam ser conservados em álcool. Aquando da primeira tentativa de aplicação deste método (8 de janeiro de 2018) verificou-se que este levaria à morte de um número exagerado de indivíduos. Além disso observou-se também que quando conservados em álcool os indivíduos perdiam a cor das listas amarelas e brancas no tórax e abdómen, o que dificultava a análise morfológica destas características. Por último, o método também não previa medições no campo ao momento da captura. Assim sendo o método teve que ser alterado, passando a utilizar-se o método referido no tópico 3. Não obstante, medições destes indivíduos (comprimento e largura) foram realizadas em laboratório e serão úteis na análise dos dados de comprimento e largura dos indivíduos capturados totais. A identificação morfológica destes indivíduos não foi possível.

De forma que não se torne confuso, os indivíduos capturados no dia 8 de janeiro de 2018 que foram conservados em álcool serão referidos como “Indivíduos Conservados em Álcool”. Já os indivíduos capturados seguindo o método atual serão referidos como “Indivíduos Capturados” e informa-se o leitor que estas capturas tiveram uma duração de 23 semanas, tendo sido iniciadas no dia 31 de janeiro de 2018 e terminadas no dia 4 de julho de 2018. Os dois grupos de capturas serão primeiro analisados separadamente, e posteriormente serão analisados como um todo, com o propósito de efetuar comparações com outros trabalhos.

4.2. Identificação Morfológica dos Indivíduos Capturados

Seguindo a chave “Key to the genera of British bees” (Bees, Wasps, & Ants Recording Society, 2012) confirmou-se inicialmente o género dos indivíduos, concluindo-se que de facto pertenciam todos ao género *Bombus*.

De seguida utilizando as chaves presentes nos livros “Field Guide to the Bees of Great Britain and Ireland” (Falk, 2015) e “Bumblebees” (Prys-Jones & Corbet, 2014), e

ainda a chave “Key to the Highland species” (Macdonald & Nisbet, 2006), fez-se a confirmação da espécie e castas dos indivíduos capturados. Conjugando a identificação efetuada e a identificação com supervisão da professora Elisabete Figueiredo (Instituto Superior de Agronomia) confirmou-se que todos os indivíduos pertenciam à espécie *Bombus terrestris*. Os indivíduos que após capturados foram conservados em álcool não foram identificados uma vez que este modo de conservação impediu uma fácil análise das suas características morfológicas. De seguida apresenta-se um gráfico no qual podem verificar-se as castas dos indivíduos capturados ao longo do tempo (figura 13) e ainda um gráfico da temperatura registada no momento da captura e a ocorrência ou não de precipitação, assim como as semanas nas quais não foram observados *Bombus terrestris* (figura 14).

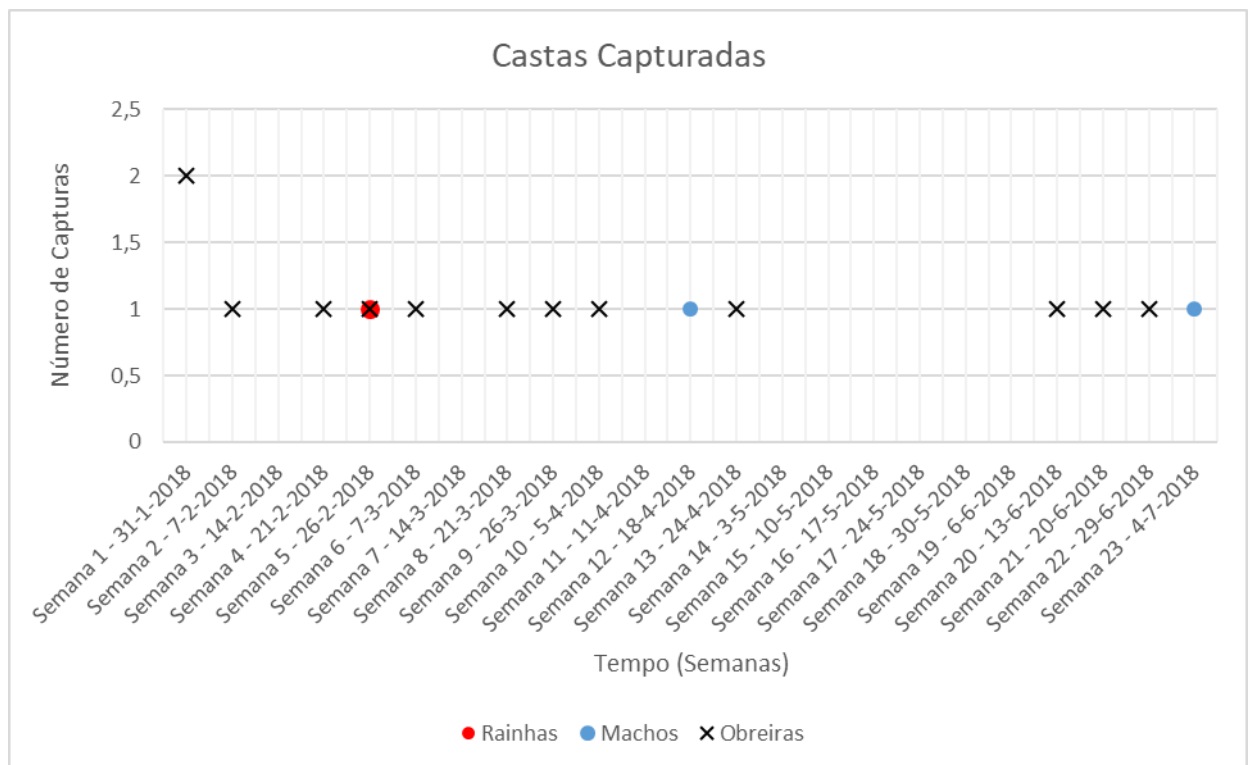


Figura 13 - Castas Capturadas

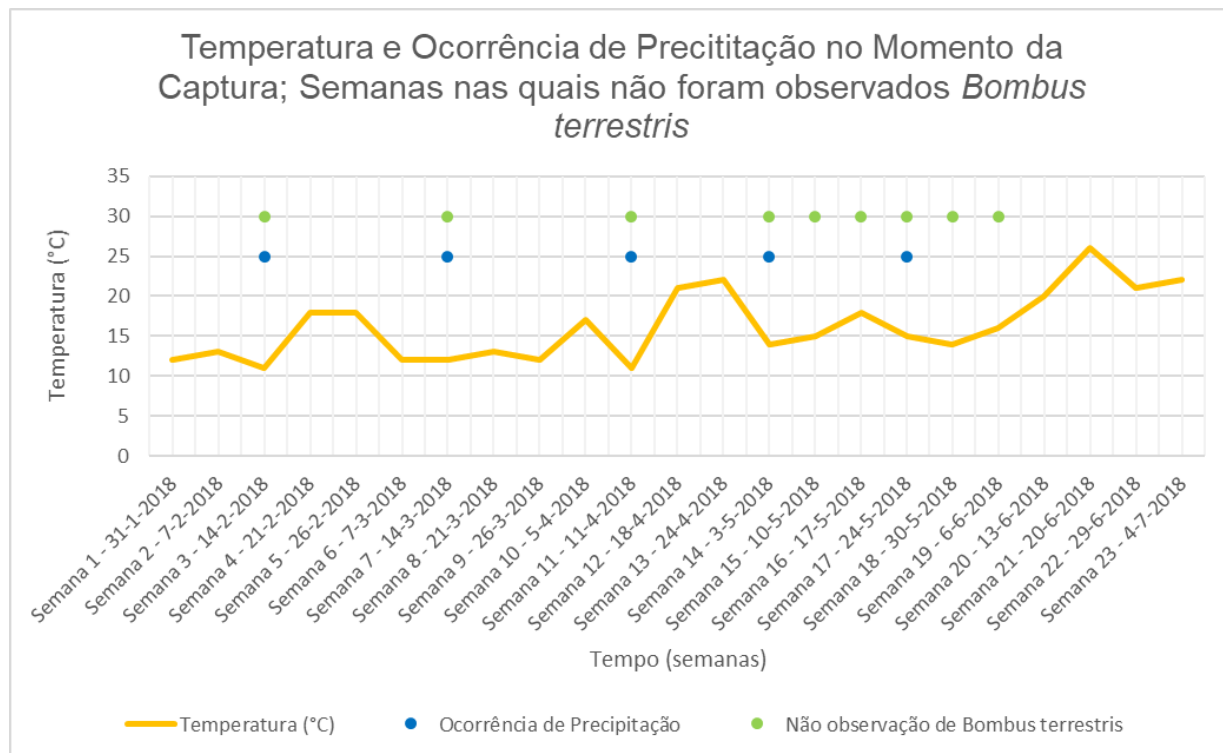


Figura 14 - Temperatura e Ocorrência de Precipitação no Momento da Captura; Semanas nas quais não foram observados *Bombus terrestris*

De seguida apresentam-se fotografias três indivíduos capturados (um de cada casta) para que seja possível o leitor verificar a dificuldade na identificação a olho nu (figura 15).



Figura 15 - Exemplos de *Bombus terrestris* capturados. A - Rainha (26/2/2018); B - Macho (18/4/2018); C - Obreira (26/2/2018)

Como é possível perceber analisando as figuras 7 e 15, a identificação da espécie e da casta é extremamente difícil a olho nu, uma vez que tanto as espécies como as castas apresentam-se muito semelhantes. Como tal, a primeira característica morfológica a analisar é sempre o número de segmentos das antenas, uma vez que

caso tenha 12 segmentos nas antenas se trata de uma fêmea (e ter-se-á que seguir uma chave relativa a fêmeas) e caso tenha 13 segmentos nas antenas então tratar-se-á de um macho (e ter-se-á que seguir uma chave relativa a machos). E além de ser uma característica que separa logo a casta, é relativamente fácil de observar à lupa (Prys-Jones & Corbet, 2014; Falk, 2015). Na figura seguinte é possível observar a análise do número de segmentos das antenas que foi feita através da lupa binocular (figura 16).



Figura 16 - Segmentos das antenas de *Bombus terrestris*

Introduzindo a análise do gráfico da figura 13, informa-se o leitor que na primeira semana foram capturados dois indivíduos de modo a verificar que o método utilizado era adequado e que na semana cinco foi capturado um indivíduo extra por se tratar de uma rainha.

Analisando a distribuição das várias castas no gráfico da figura 13 é possível supor que o segundo indivíduo capturado na semana 5 se trata de uma rainha que recentemente emergiu da diapausa e se encontra no início do ciclo, fase durante a qual ainda sai do ninho para coletar pólen e néctar.

No gráfico da figura 13 é possível verificar que foram capturados dois machos, um na semana 12 (18/4/2018) e outro na semana 23 (4/4/2018). Em relação ao macho capturado na semana 23 não existe qualquer dúvida que representa o fim do ciclo da sua colónia. Já o macho capturado na semana 12 sugere duas possíveis opções: a

captura deste macho indica o fim do ciclo da sua colónia; ou a captura deste macho pode sugerir a existência de uma segunda geração. Definitivamente, a captura deste macho indica claramente o fim de uma geração, no entanto não garante a existência de duas gerações por ciclo.

No seu habitat natural, o *Bombus terrestris* possui apenas uma geração por cada ciclo (Prys-Jones & Corbet, 2014), no entanto vários autores abordaram a possibilidade de nalgumas condições existirem duas gerações por cada ciclo. Estas condições são essencialmente climas mais quentes em comparação com os climas dos quais os *Bombus terrestris* são nativos e menor altitude, especialmente se a população estiver numa região na qual não é nativa, sendo, portanto invasora (Buttermore, 1997; Hingston, et al., 2002; Dafni, et al., 2010). Parece improvável que existam duas gerações por ciclo, uma vez que o *Bombus terrestris* é nativo na região mediterrânica, no entanto esta é uma região quente e, fruto da escassa informação em Portugal sobre esta espécie, não podemos excluir esta hipótese.

Como é possível verificar nos gráficos das figuras 13 e 14 não foram observados *Bombus terrestris* nas semanas 3, 7, 11, 14, 15, 16, 17, 18 e 19. Nas semanas 3, 7 e 11 a não observação de qualquer indivíduo poderá ser justificada pela ocorrência de precipitação. Ainda que a ocorrência de precipitação possa justificar a não observação de qualquer *Bombus terrestris* nas semanas 14 e 17, a não observação de qualquer indivíduo entre as semanas 14 e 19 gera confusão, uma vez que não choveu na maioria destas semanas e as temperaturas verificadas não impediam a atividade dos *Bombus terrestris*. Coloca-se como hipótese o facto de ter sido capturado um macho na semana 12 representar efetivamente o fim de uma geração e justificar de certa forma a ausência de *Bombus terrestris* nas semanas seguintes, no entanto a falta de informação em Portugal não permite comprovar esta hipótese.

4.3. Medições em Laboratório

4.3.1. Medições em Laboratório dos Indivíduos Conservados em Álcool

Não foi possível efetuar identificação morfológica destes indivíduos, mas as diferenças no comprimento e largura levam-nos a crer que foram capturadas oito obreiras e duas rainhas. De seguida apresenta-se a estatística descritiva relativa aos indivíduos conservados em álcool (tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Estatística Descritiva das obreiras conservadas em álcool

Estatísticas - Obreiras			
		Comprimento em cm	Largura em cm
N	Válido	8	8
	Omisso	0	0
Média		1,60962	,58488
Mediana		1,57800	,56950
Desvio Padrão		,158216	,061345
Mínimo		1,472	,517
Máximo		1,965	,693

Tabela 6 - Estatística Descritiva das rainhas conservadas em álcool

Estatísticas - Rainhas			
		Comprimento em cm	Largura em cm
N	Válido	2	2
	Omisso	0	0
Média		2,10400	,80700
Mediana		2,10400	,80700
Desvio Padrão		,039598	,009899
Mínimo		2,076	,800
Máximo		2,132	,814

Não existe muita informação sobre comprimento e largura do tórax de *Bombus terrestris*, mas Goulson (2010) expõe um histograma (figura 17) que mostra a frequência de diferentes larguras do tórax e tornando claro que a distribuição é bimodal, sendo uma moda relativa à largura do tórax das rainhas e outra das obreiras. Ainda assim, Goulson (2010) não considera a largura do tórax como um parâmetro válido para a determinação da casta. O gráfico é de seguida apresentado (figura 17).

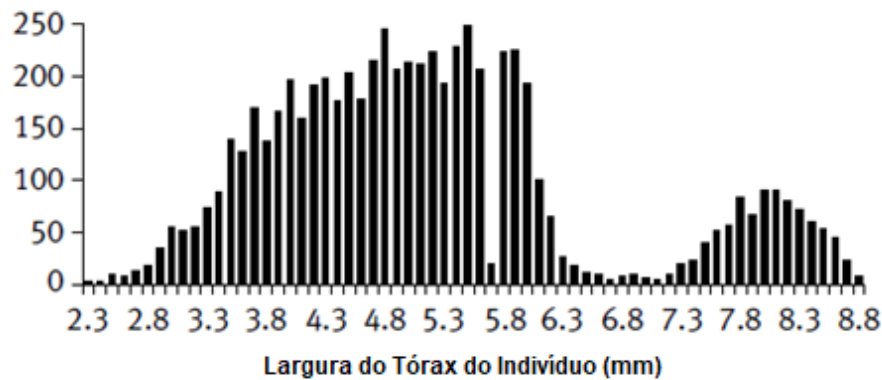


Figura 17 - Histograma de frequência de diferentes larguras do tórax de *Bombus terrestris* provenientes de 28 ninhos.
Fonte: Goulson, 2010

Caso a largura do tórax fosse um indicador válido para determinação da casta, então no grupo de capturas conservado em álcool estariam claramente presentes oito obreiras e duas rainhas.

4.3.2. Medições em Laboratório dos Indivíduos Capturados

Os indivíduos em questão nesta análise foram capturados semanalmente entre 31 de janeiro de 2018 e 4 de julho de 2018. Na primeira (31 de janeiro 2018) e na quinta (26 de fevereiro de 2018) semanas foram capturados dois indivíduos, para verificação do método e por ter sido observada uma rainha, respetivamente. Durante as 23 semanas que as capturas duraram foram capturadas treze obreiras, dois machos e uma rainha e em nove semanas não foram efetuadas capturas pelas razões explicadas no tópico 4.2. A obreira capturada na semana 13 (24 de abril de 2018) não foi possível medir em laboratório devido ao seu elevado grau de degradação, como tal, será excluída da análise das medições efetuadas, obtendo-se assim quinze indivíduos aptos para a análise das medições. De seguida apresentam-se as estatísticas descritivas divididas pelas três castas (tabelas 7, 8 e 9).

Tabela 7 - Estatística Descritiva das obreiras capturadas

Estatísticas - Obreiras			
		Comprimento em cm	Largura em cm
N	Válido	12	12
	Omisso	0	0
Média		1,67917	,62142
Mediana		1,71250	,60950
Desvio Padrão		,204738	,062965
Mínimo		1,386	,542
Máximo		1,987	,726

Tabela 8 - Estatística Descritiva dos machos capturados

Estatísticas - Machos			
		Comprimento em cm	Largura em cm
N	Válido	2	2
	Omisso	0	0
Média		1,72450	,64600
Mediana		1,72450	,64600
Desvio Padrão		,156271	,065054
Mínimo		1,614	,600
Máximo		1,835	,692

Tabela 9 - Estatística Descritiva da rainha capturada

Estatísticas - Rainha			
		Comprimento em cm	Largura em cm
N	Válido	1	1
	Omisso	0	0
Média		2,05200	,82600

Com o objetivo de comparar as medições de comprimento e largura das obreiras capturadas neste trabalho com as medições de comprimento e largura de obreiras capturadas por Ahmar (2017) em 2016 em Estarreja, procedeu-se a um teste t-student de comparação de médias no programa SPSS, versão 25.

Para que fosse possível proceder ao teste de comparação de médias, primeiro analisou-se a estatística descritiva das amostras (20 obreiras capturadas no âmbito deste trabalho e 13 obreiras capturadas por Ahmar (2017) em 2016) (tabelas 10 e 11) e efetuaram-se testes Shapiro-Wilk (tabela 12) para averiguar a aproximação dos dados a uma distribuição normal. As 20 obreiras capturadas neste trabalho correspondem a 8 conservadas em álcool e 12 capturadas segundo o método referido no tópico 3. O mesmo tipo de teste não foi realizado para rainhas ou machos uma vez que as amostras destas castas eram muito reduzidas. Também a amostra de obreiras é reduzida, é uma realidade, mas na decisão do número de capturas efetuadas pesou fortemente o possível impacto que a captura de uma amostra maior teria nas populações de *Bombus terrestris* e no ecossistema dos Jardins do Palácio de Cristal. De seguida apresentam-se as tabelas da estatística descritiva dos indivíduos aptos para este teste (tabelas 10 e 11).

Tabela 10 - Estatística Descritiva das obreiras para teste de comparação de médias

Estatística Descritiva			
		Comprimento em cm	Largura em cm
N	Válido	20	20
	Omisso	0	0
Média		1,65135	,60680
Mediana		1,62700	,58500
Desvio Padrão		,186312	,063396
Assimetria		,465	,450
Erro de assimetria padrão		,512	,512
Curtose		-,952	-,908
Erro de Curtose padrão		,992	,992
Mínimo		1,386	,517
Máximo		1,987	,726

Tabela 11 - Estatística Descritiva das obreiras de Ahmar (2017)

Estatística Descritiva de Ahmar (2017)			
		Comprimento em cm	Largura em cm
N	Válido	13	13
	Omisso	0	0
Média		1,92801	,74378
Mediana		1,87651	,74353
Desvio Padrão		,241522	,144570
Assimetria		,284	-,257
Erro de assimetria padrão		,616	,616
Curtose		-1,273	-1,634
Erro de Curtose padrão		1,191	1,191
Mínimo		1,566	,537
Máximo		2,287	,919

De seguida apresentam-se os testes Shapiro-Wilk para avaliação da aproximação dos dados a uma distribuição normal (tabela 12).

Tabela 12 - Testes de Shapiro-Wilk (amostra vs Ahmar (2017))

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Comprimento em cm	,123	20	,200*	,937	20	,211
Largura em cm	,192	20	,052	,933	20	,177
Comprimento em cm Ahmar (2017)	,163	13	,200	,923	13	,279
Largura em cm Ahmar (2017)	,198	13	,173	,886	13	,087
*. This is a lower bound of the true significance.						
a. Lilliefors Significance Correction						

Tomando como hipótese nula “Os dados seguem uma distribuição aproximada à normal”, podemos concluir que não existe evidência estatística suficiente para rejeitar esta hipótese em nenhum dos casos, uma vez que em todos sig>0,05. Assim sendo, podemos assumir que os dados seguem distribuições aproximadas à normal.

De seguida procedeu-se ao teste t-student de comparação de médias com amostras independentes e o resultado do mesmo apresenta-se de seguida (tabela 13).

Tabela 13 - Teste de comparação de médias

Teste de amostras independentes						
		Teste de Levene para igualdade de variâncias		Teste t-student para Igualdade de Médias		
		Z	Sig.	t	df	Sig. (2 extremidades)
Comprimento em cm	Variâncias iguais assumidas	1,631	,211	-3,710	31	,001
	Variâncias iguais não assumidas			-3,509	21,080	,002
Largura em cm	Variâncias iguais assumidas			-3,739	31	,001
	Variâncias iguais não assumidas	15,124	,000	-3,218	15,040	,006

Analisando em primeiro lugar, na tabela 13, os testes de Levene para igualdade de variâncias podemos assumir que as variâncias das amostras são iguais para o comprimento, uma vez que não existe evidência estatística suficiente ($\text{sig} > 0,05$) para rejeitar a hipótese nula “As variâncias das amostras são iguais”. Já para a largura, existe evidência estatística suficiente para rejeitar a hipótese nula ($\text{sig} < 0,05$).

Quanto ao Teste t-student para Igualdade de Médias (tabela 13), podemos concluir que rejeitamos a hipótese nula “Não existe diferença significativa entre as médias das amostras” uma vez que existe evidência estatística suficiente para afirmar que as médias das amostras são significativamente diferentes ($\text{sig} < 0,05$) tanto para o comprimento como para a largura.

O resultado deste teste mostrou que existiam diferenças significativas nas médias tanto de comprimento como de largura entre as duas amostras. Este resultado pode ter várias explicações, nomeadamente: a natural variabilidade das populações; cruzamentos com espécies utilizadas comercialmente; erros significativos nas medições.

As populações possuem uma variabilidade que lhes é natural, ainda assim, e tendo em conta os dados, este resultado parece mostrar uma diferença demasiado grande para ser explicada apenas pela natural variabilidade. É certo que o local de captura difere, e isso pode ter influência nas diferenças verificadas, ainda assim não parece ser prova suficiente.

Quanto aos cruzamentos com espécies utilizadas comercialmente que possam ter fugido de estufas, este é provável, mas extremamente difícil de comprovar nestas

condições. Não existem dados suficientes para afirmar que seja esta a razão de tamanha diferença nas medições obtidas. Para que tal fosse possível, o ideal seria trabalhar com um geneticista de modo a comprovar os cruzamentos e posteriormente analisar estatisticamente a influência que estes possam ter em características como comprimento e largura.

Podem de facto existir erros nas medições, e esta parece ser a razão mais plausível para tamanhas diferenças. Existe certamente uma variabilidade natural entre as amostras, dado que são provenientes de locais diferentes, e consequentemente de populações provavelmente diferentes também. Ainda assim, as diferenças que se apresentam aparentam ser exageradas, uma vez que nas medições de Ahmar (2017) existem obreiras que de acordo com o histograma de Goulson (2010) (figura 17) teriam a mesma largura do tórax que algumas rainhas. Da mesma forma, algumas obreiras medidas por Ahmar (2017) têm comprimentos semelhantes ou superiores aos das rainhas capturadas no âmbito deste trabalho. É certo que Goulson (2010) frisa que estas medições não são suficientes para distinguir castas, mas as diferenças verificadas nas medições levam a crer que existiu mesmo algum erro nas medições. Segundo Ahmar (2017) as suas medições foram efetuadas com um paquímetro digital Powerfix profi com precisão de $0 - 100 \text{ mm} \pm 0,02$, ainda uma lupa binocular (motic) com software para medição (Nikon SMZ1000). Não existem no trabalho de Ahmar (2017) indicações sobre se as medições foram todas efetuadas com os dois aparelhos ou não, mas alguma informação neste trabalho sugere que possam ter existido medições efetuadas apenas com o paquímetro que aparenta ser extremamente impreciso.

De forma a que seja mais simples verificar estas diferenças, de seguida apresentam-se dois gráficos (figuras 18 e 19) nos quais é possível notar as diferenças entre as medições efetuadas por Ahmar (2017) em 2016 e as medições efetuadas em 2018 no âmbito deste trabalho.

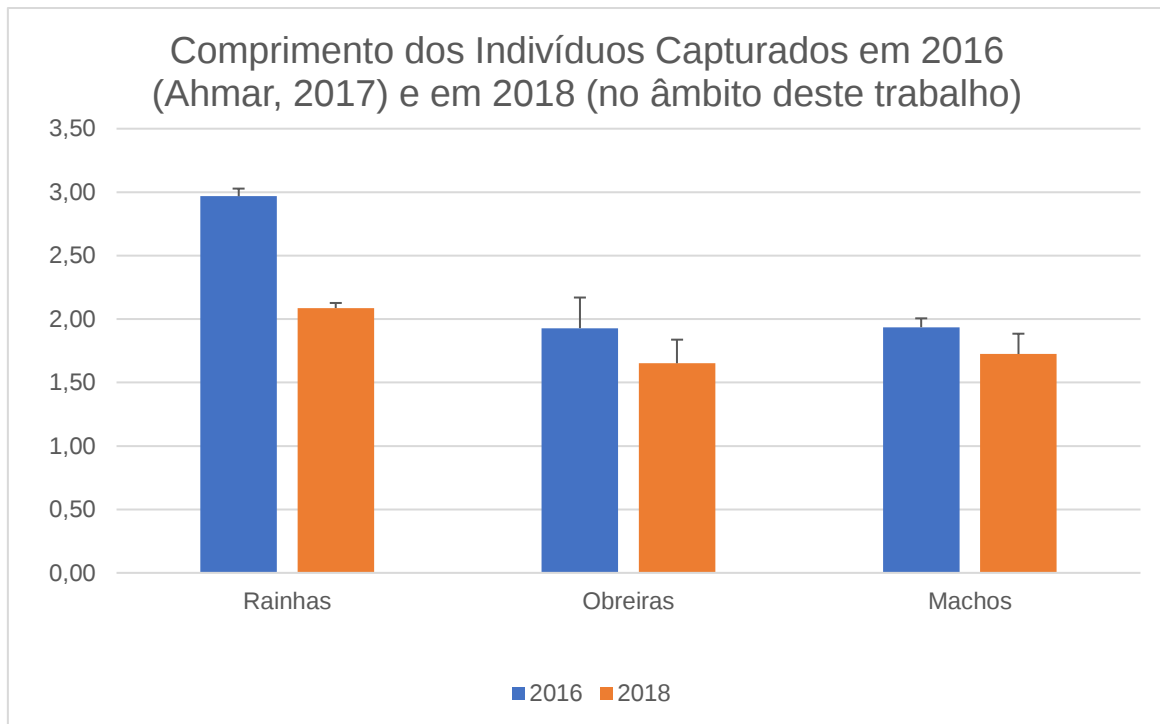


Figura 18 - Comprimento dos Indivíduos Capturados em 2016 (Ahmar, 2017) e em 2018 (no âmbito deste trabalho)

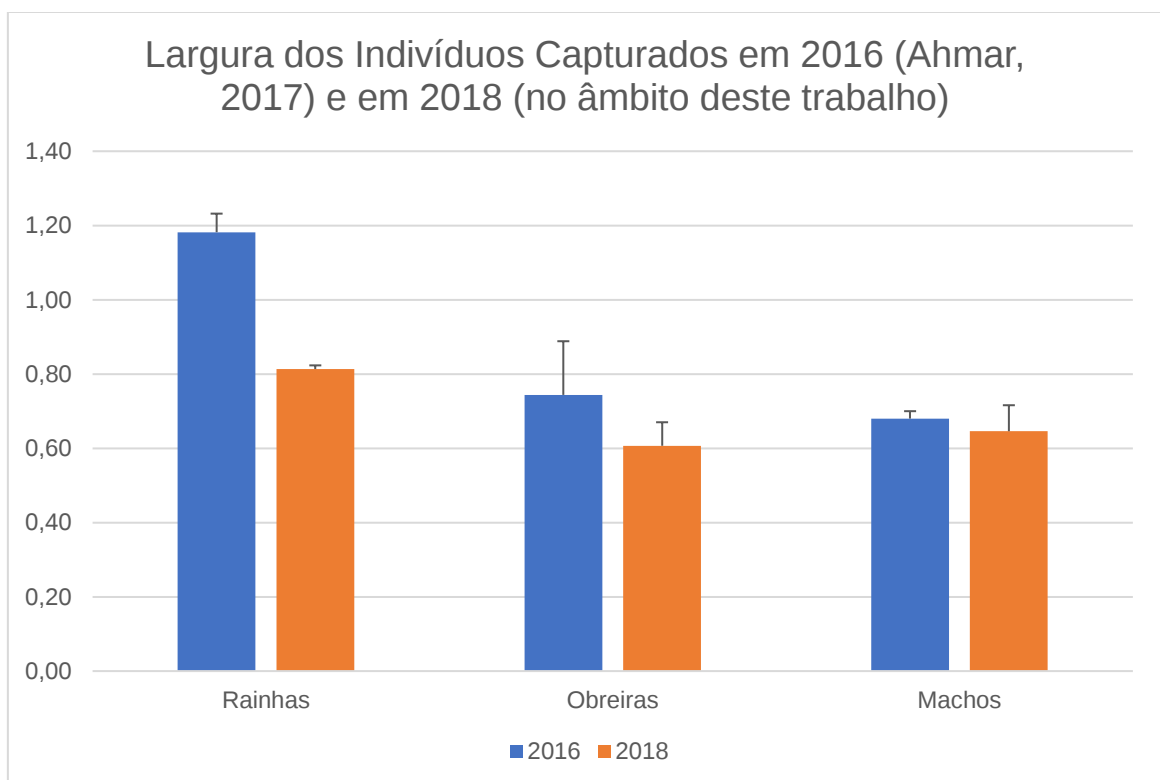


Figura 19 - Largura dos Indivíduos Capturados em 2016 (Ahmar, 2017) e em 2018 (no âmbito deste trabalho)

4.3.3. Verificação da Validade das Medições Efetuadas com Paquímetro

Desde o início das capturas a medição efetuada com paquímetro mostrou-se muito pouco precisa, uma vez que os insetos, ainda que anestesiados ou mortos, se fixavam em posições de impossível medição e são maleáveis e, como tal, a abertura do paquímetro variaria de acordo com a força aplicada, não havendo assim uma medição regular. De modo a verificar se as medições efetuadas com paquímetro têm diferenças significativas, conduziu-se um teste de comparação de médias entre as medições efetuadas com paquímetro e as medições efetuadas em laboratório com lupa binocular com software de medição (tabela 16), dos quinze indivíduos capturados aptos para medição. Primeiramente conduziram-se testes de Shapiro-Wilk para averiguar a aproximação dos dados a uma distribuição normal (tabela 14). De seguida apresenta-se o resultado desses testes.

Tabela 14 - Teste de Shapiro-Wilk (Paquímetro vs Lupa Binocular)

Testes de Normalidade						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estatística	df	Sig.	Estatística	df	Sig.
Comprimento em cm medido com paquímetro	,138	15	,200*	,887	15	,059
Largura em cm medida com paquímetro	,216	15	,058	,884	15	,054
Comprimento em cm medido em laboratório	,129	15	,200*	,959	15	,671
Largura em cm medida em laboratório	,154	15	,200*	,919	15	,183
*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.						
a. Correlação de Significância de Lilliefors						

Sendo que a hipótese nula é “Os dados seguem uma distribuição aproximada à normal”, podemos através dos testes Shapiro-Wilk verificar que não existe evidência estatística suficiente para rejeitar esta hipótese (uma vez que $\text{sig} > 0,05$), assumindo assim que os dados seguem distribuições aproximadas à normal.

De seguida apresenta-se uma tabela com média e desvio padrão para comprimento e largura de acordo com o método de medição (tabela 15) e ainda o resultado do teste de comparação de médias (tabela 16).

Tabela 15: Média e Desvio padrão das amostras (Paquímetro vs Lupa Binocular)

Estatísticas de grupo					
	Tipo de Medição	N	Média	Desvio Padrão	Erro padrão da média
Comprimento em cm	Paquímetro	15	1,55333	,193378	,049930
	Laboratório	15	1,71007	,209473	,054086
Largura em cm	Paquímetro	15	,71600	,075290	,019440
	Laboratório	15	,63833	,078655	,020309

Tabela 16 - Teste de comparação de médias (Paquímetro vs Lupa Binocular)

Teste de amostras independentes						
		Teste de Levene para igualdade de variâncias		Teste t-student para Igualdade de Médias		
		Z	Sig.	t	df	Sig. (2 extremidades)
Comprimento em cm	Variâncias iguais assumidas	,806	,377	-2,159	28	,042
	Variâncias iguais não assumidas			-2,129	27,823	,042
Largura em cm	Variâncias iguais assumidas	,302	,587	2,763	28	,010
	Variâncias iguais não assumidas			2,763	27,947	,010

Analisando em primeiro lugar, na tabela 16, os testes de Levene para igualdade de variâncias podemos assumir que as variâncias das amostras são iguais, uma vez que não existe evidência estatística suficiente ($\text{sig} > 0,05$) para rejeitar a hipótese nula “As variâncias das amostras são iguais”.

Quanto ao Teste t-student para Igualdade de Médias, podemos concluir que rejeitamos a hipótese nula “Não existe diferença significativa entre as médias das amostras” uma vez que existe evidência estatística suficiente para afirmar que as médias das amostras são significativamente diferentes ($\text{sig} < 0,05$).

Assim sendo, ao concluirmos que as médias, tanto da largura como do comprimento, são significativamente diferentes, provamos estatisticamente que o paquímetro é efetivamente um instrumento muito pouco preciso para a medição destes insetos.

De forma a que seja mais fácil verificar esta diferença, de seguida apresentam-se dois gráficos nos quais é possível verificar a diferença entre as medições feitas com paquímetro e em laboratório (figuras 20 e 21).

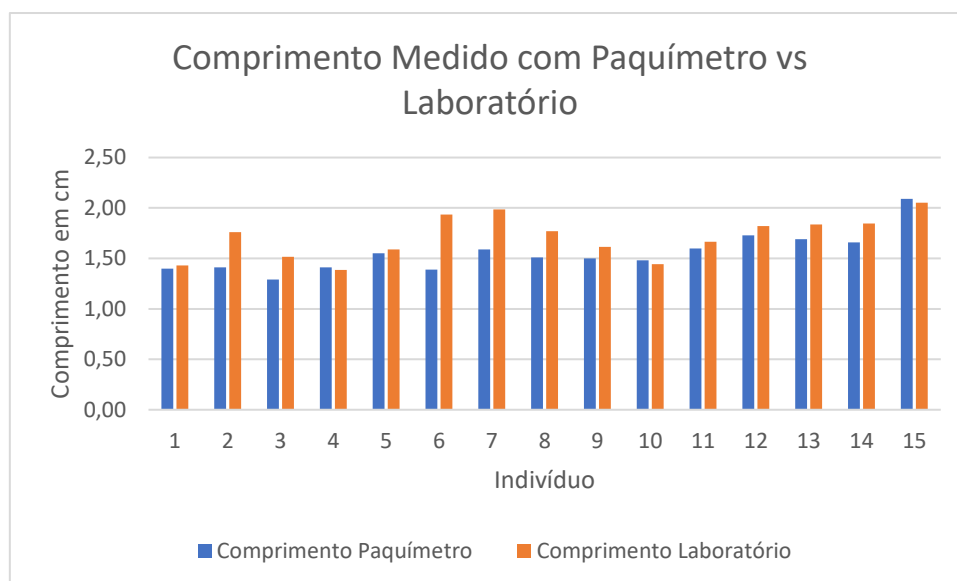


Figura 20 - Comprimento medido com paquímetro vs em laboratório

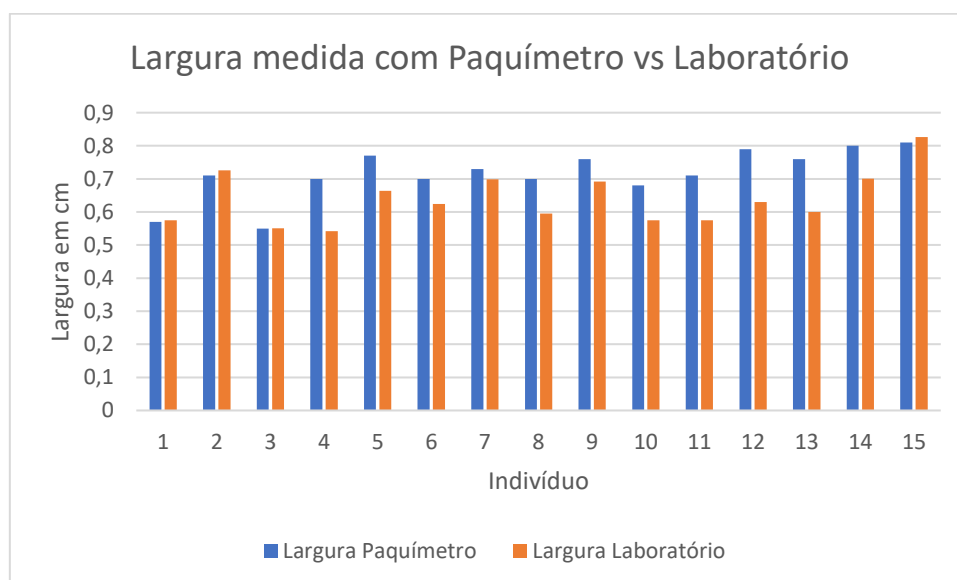


Figura 21 - Largura medida com paquímetro vs em laboratório

Como é visível nos gráficos das figuras 20 e 21 as medições são todas diferentes umas das outras. Ainda que pareça existir um padrão que mostra que o paquímetro efetua medidas inferiores às da lupa para o comprimento e superiores para a largura, isto nem sempre se verifica e certamente estas diferenças são fruto apenas do erro (humano) que está associado à utilização do paquímetro, mediante a força que é aplicada durante a medição.

4.4. Flores nas quais foram efetuadas as capturas

Na tentativa de demonstrar que os *Bombus terrestris* são generalistas no que toca à escolha das flores que visitam, foram registadas todas as flores nas quais foram efetuadas capturas. Para esta análise o indivíduo que não estava apto para medições dado o seu grau de degradação, é válido, uma vez que foi registada a flor em que foi capturado. De seguida apresentam-se fotografias das plantas nas quais foram efetuadas as capturas (figura 22) e uma tabela com os indivíduos e as flores em que foram capturados (tabela 17).

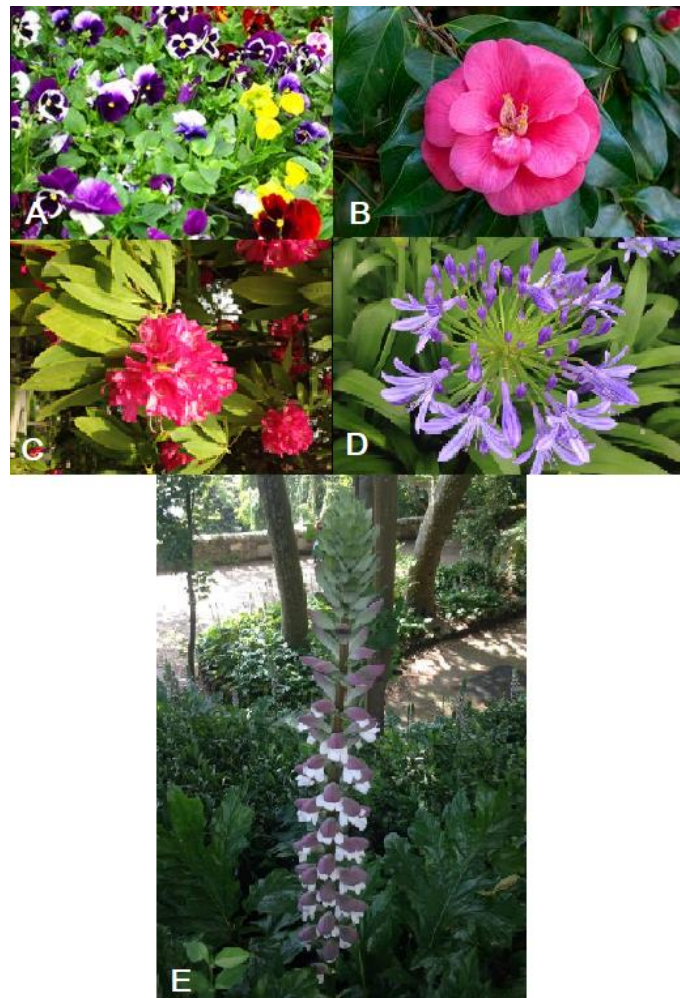


Figura 22 - Flores nas quais foram capturados *Bombus terrestris*. A - *Viola tricolor*; B - *Camellia japonica*; C - *Rhododendron arboreum*; D - *Agapanthus africanus*; E - *Acanthus mollis*

Tabela 17 - Flores em que foram capturados os indivíduos e mês da captura

Semana/Indivíduo	Mês da Captura	Flor
Semana 1/Indivíduo 1	Janeiro	<i>Camellia japonica</i>
Semana 1/Indivíduo 2		
Semana 2/Indivíduo 1	Fevereiro	<i>Viola tricolor</i>
Semana 4/Indivíduo 1		
Semana 5/Indivíduo 1		
Semana 5/Indivíduo 2		
Semana 6/Indivíduo 1	Março	<i>Camellia japonica</i>
Semana 8/Indivíduo 1		
Semana 9/Indivíduo 1		
Semana 10/Indivíduo 1	Abril	<i>Rhododendron arboreum</i>
Semana 12/Indivíduo 1		
Semana 13/Indivíduo 1		
Semana 20/Indivíduo 1	Junho	<i>Acanthus mollis</i>
Semana 21/Indivíduo 1		
Semana 22/Indivíduo 1		
Semana 23 Indivíduo 1	Julho	<i>Agapanthus africanus</i>

De seguida é apresentado um gráfico com as épocas de floração das plantas nas quais foram efetuadas as capturas (figura 23).

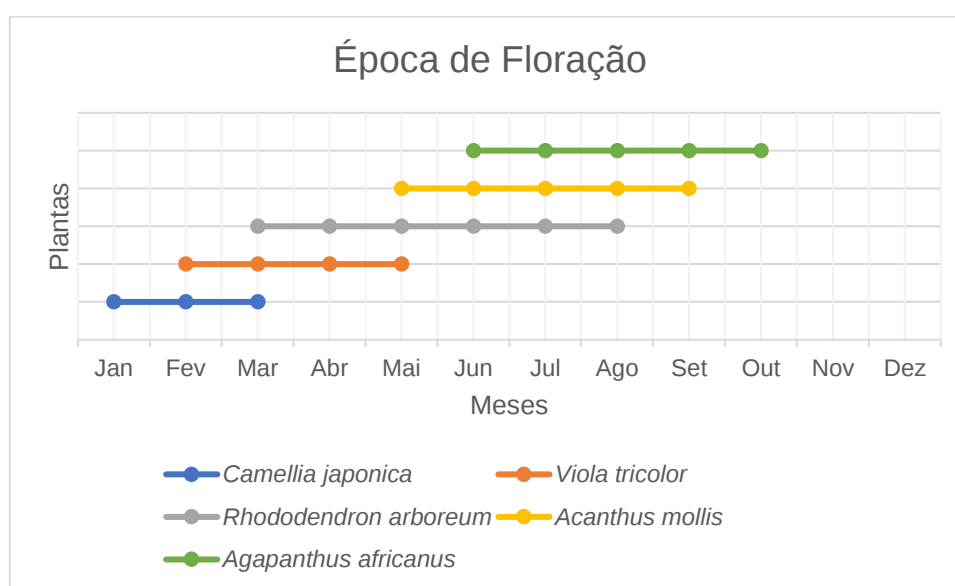


Figura 23 - Época de floração

Analisando o gráfico da figura 23 podemos observar que a *Camellia japonica* está em floração entre janeiro e março (UTAD, s.d.), a *Viola tricolor* entre fevereiro e maio (Eppinger & Hofmann, 2008; Plants for a Future, s.d.; M. Oliveira, comunicação pessoal, 8 de outubro de 2018; J. L. Margarido, comunicação pessoal, 7 de outubro de 2018), *Rhododendron arboreum* entre março e agosto (Serralves, s.d.; Royal

Horticultural Society, s.d.), *Acanthus mollis* entre maio e setembro (UTAD, s.d.) e *Agapanthus africanus* entre junho e outubro (Jardins Sintra, s.d.; UTAD, s.d.; Plantar Portugal, s.d.; Gardenia, s.d.; Royal Horticultural Society, s.d.)

Cruzando os dados da tabela 17 com os dados do gráfico da figura 23 podemos observar que as capturas foram efetuadas sempre de acordo com a planta que estava em floração no momento. Tal facto sugere que os *Bombus terrestris* não têm preferência por nenhuma planta, escolhendo visitar qualquer uma que esteja em floração. Como é possível verificar entre fevereiro e março foram feitas capturas tanto em *Camellia japonica* como em *Viola tricolor*, e ambas se encontravam em floração, o que mostra que não havia preferência por nenhuma delas, uma vez que existiam *Bombus terrestris* em ambas.

Assim sendo, existem indícios de que os *Bombus terrestris* não têm preferência na escolha das plantas que visitam, ou seja, são generalistas.

5. Conclusão

Tendo em conta a escassez de dados em Portugal sobre *Bombus terrestris*, esta dissertação permite que no futuro seja mais simples estudar estes insetos. Tal como se desejava, este trabalho serve de base de informação para trabalhos futuros e oferece ainda ao público em geral informação sobre a biologia e ciclo de vida de *Bombus spp.* na natureza e ainda sobre a utilização de *Bombus spp.* na agricultura e as consequências que tal atividade envolve. Com todas as vantagens e desvantagens que a utilização destes insetos acarreta, é do interesse geral que o conhecimento sobre os mesmos atinja mais pessoas antes que surjam consequências negativas irreversíveis. É do interesse de todos que esta espécie, e outras espécies polinizadoras, no caso de serem utilizadas pelo humano para seu benefício, sejam utilizadas de forma responsável e com um maior conhecimento das consequências.

Através da captura de *Bombus terrestris* nos Jardins do Palácio de Cristal no Porto conseguiu identificar-se morfologicamente a espécie através de várias chaves e conhecer o seu ciclo de vida e dinâmica populacional. Entendeu-se a dinâmica de funcionamento da espécie no início do ciclo com a presença três rainhas nas capturas iniciais e no final do ciclo com a captura de machos. Neste particular objetivo, o trabalho peca no sentido de não ter sido possível perceber se em Portugal é ou não possível que os *Bombus terrestris* tenham duas gerações por ciclo, uma vez que não houve forma de o comprovar devido à escassa informação disponível.

Ainda que não seja um parâmetro válido para identificação das castas, parece claro que as rainhas têm maiores dimensões que as obreiras e os machos no que toca ao comprimento e largura. Tal facto não foi comprovado estatisticamente devido ao reduzido número de rainhas e machos capturados. Será interessante no futuro estudar-se se o comprimento e a largura são fatores de peso na distinção das castas.

Verificou-se que existia uma diferença estatisticamente significativa entre o comprimento e a largura das capturas deste trabalho e as de Ahmar (2017), feitas noutro local. Seria interessante estudar estes parâmetros com um auxílio de um geneticista, de modo a avaliar se as diferenças no comprimento e largura estão relacionadas com a genética. Comparando-se várias amostras selvagens com amostras provenientes de colmeias comerciais, poderá ser possível verificar a existência ou não de cruzamentos entre indivíduos selvagens e comerciais e ainda que influências isso poderá ter nas populações selvagens.

Quanto à característica generalista no que toca a preferências florais, comprovou-se que os *Bombus terrestris* visitam as plantas que estiverem em floração no momento. Este facto mostra que os *Bombus terrestris* são versáteis e não têm preferência por nenhuma, uma vez que visitam qualquer uma desde que esteja em floração. De forma a que seja possível aprofundar o estudo desta característica, seria interessante estudar em ambiente de laboratório a preferência no que toca à cor, odor ou características nutritivas do néctar e pólen das flores. Dessa forma seria possível comprovar estatisticamente esta questão.

Através da realização deste trabalho percebeu-se ainda que o paquímetro não é um instrumento adequado à medição de comprimento e largura de *Bombus terrestris* e que caso se deseje identificar morfologicamente os indivíduos através das suas cores, o método de conservação em álcool também não é viável.

Para que seja possível tirar conclusões mais efetivas, seria necessário ter amostras maiores em comparação com as deste trabalho, é uma realidade. No entanto o peso que a captura de um maior número de indivíduos teria na espécie e no equilíbrio do ecossistema dos Jardins do Palácio de Cristal foi algo tido muito em conta, e optou-se por efetuar menos capturas.

6. Referências Bibliográficas

- Abak, K. et al., 1997. Pollen production and quality of pepper grown in unheated greenhouses during winter and the effects of bumble bees (*Bombus terrestris*) pollination on fruit yield and quality. *Acta Horticulturae*, Volume 437, pp. 303-308.
- Abrahamovich, A. H., Tellería, M. C. & Díaz, N. B., 2001. *Bombus* species and their associated flora in Argentina. *Bee World*, Volume 82, pp. 76-87.
- Ahmar, C. H., 2017. Caracterização das Populações de *Bombus terrestris*: Capturados na Região Litoral Norte de Portugal e Presentes em Colmeias Comerciais. (Dissertação de Mestrado). Universidade do Porto: Porto.
- Allsopp, M., de Lange, W. & Veldtman, R., 2008. Valuing Insect Pollination Services with Cost of Replacement. *PLoS One*, 3(9).
- Bees, Wasps, & Ants Recording Society, 2012. *BWARS*. [Online] Available at: <http://www.bwars.com> [Acedido em 12 Janeiro 2018].
- Bell, M. C., Spooner-Hart, R. & Haigh, A., 2006. Pollination of greenhouse tomatoes by the Australian Bluebanded bee *Amegilla* (*Zonamegilla*) *holmesi* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(2), pp. 437-442.
- Bertsch, A., 2009. Barcoding cryptic bumblebee taxa: *B. lucorum*, *B. cryptarum* and *B. magnus*, a case study (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*). *Beiträge zur Entomologie*, 59(2), pp. 287-310.
- Bertsch, A., Schweer, H., Titze, A. & Tanaka, H., 2005. Male labial gland secretions and mitochondrial DNA markers support species status of *Bombus cryptarum* and *B. magnus* (Hymenoptera, Apidae). *Insectes Sociaux*, 52(1), pp. 45-54.
- Biobus, s.d. *Regional Development Fund of North Aegean*. [Online] Available at: http://www.ptaba.gr/dyn/banner/051716134738_b.pdf [Acedido em Março 2018].
- Bloch, G. et al., 1996. Effects of social conditions on Juvenile Hormone mediated reproductive development in *Bombus terrestris* workers. *Physiological Entomology*, Volume 21, pp. 257-267.

- Bossert, S., 2015. Recognition and identification of bumblebee species in the *Bombus lucorum*-complex (Hymenoptera, Apidae) - A review and outlook. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 62(1), pp. 19-28.
- Bumblebees, s.d. *Bumblebees*. [Online]
Available at: <http://www.bumblebee.org/index.html>
[Acedido em Março 2018].
- Burd, M., 1994. Bateman's Principle and Plant Reproduction: The Role of Pollen Limitation in Fruit and Seed Set. *The Botanical Review*, 60(1), pp. 84-112.
- Buttermore, R. E., 1997. Observations of successful *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in Southern Tasmania. *Australian Journal of Entomology*, Volume 36, pp. 251-254.
- Calzoni, G. L. & Speranza, A., 1998. Insect controlled pollination in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Scientia Horticulturae*, 72(2), pp. 227-237.
- Cameron, S. A., Hines, H. M. & Williams, P. H., 2007. A Comprehensive Phylogeny of the Bumble Bees (*Bombus*). *Biological Journal of the Linnean Society*, Volume 91, pp. 161-188.
- Capinera, L. J., 2008. *Encyclopedia of Entomology*. 2º ed. Heidelberg: Springer Science & Business Media.
- Carolan, J. C. et al., 2012. Colour Patterns Do Not Diagnose Species: Quantitative Evaluation of a DNA Barcoded Cryptic Bumblebee Complex. *PLoSOne*, 7(12).
- Chittka, L., Ings, T. C. & Raine, N. E., 2004. Chance and adaptation in the evolution of island bumblebee behaviour. *Population Ecology*, Volume 46, pp. 243-251.
- Comont, R., 2017. *Bumblebees*. 1ª ed. London: Bloomsbury Publishing Plc.
- Coppée, A., 2010. *Bombus terrestris* (L. 1758): A Complex Species or a Species Complex. (Tese de Douturamento). Université de Mons: Mons.
- Corbet, S. A. et al., 1993. Temperature and the pollinating activity of social bees. *Ecological Entomology*, 18(1), pp. 17-30.
- Cowan, D. P. & Stalhut, J. K., 2004. Functionally reproductive diploid and haploid males in an inbreeding hymenopteran with complementary sex determination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(28), pp. 10374-10379.
- Dafni, A., 1998. The threat of *Bombus terrestris* spread. *Bee World*, 79(3), pp. 113-114.

- Dafni, A., Kevan, P., Gross, C. L. & Goka, K., 2010. *Bombus terrestris*, pollinator, invasive and pest: An assessment of problems associated with its widespread introductions for commercial purposes. *Applied Entomology and Zoology*, 45(1), pp. 101-113.
- Dafni, A. & Shmida, A., 1996. The possible ecological implications of the invasion of *Bombus terrestris* (L.) (Apidae) at Mt Carmel, Israel. Em: A. C. Matheson, ed. *The Conservation of Bees*. London: The Linnean Society of London, pp. 183-200.
- De Jonghe, R., 1986. Crossing experiments with *Bombus terrestris terrestris* (LINNAEUS, 1758) and *Bombus terrestris xanthopus* KRIECHBAUMER, 1870 and some notes on diapause and nose-ose (*Hymenoptera* : Apoidea). *Phegea*, Volume 14, pp. 19-23.
- De Jonghe, R., 1986. Male Parentage in a bumblebee : *Bombus terrestris* (LINNAEUS, 1758) (*Hymenoptera* : Apoidea). *Phegea*, Volume 14, pp. 49-54.
- Dohzono, I., Kunitake, Y. K., Yokoyama, J. & Goka, K., 2008. Alien bumble bee affects native plant reproduction through interactions with native bumble bees. *Ecology*, 89(11), pp. 3082-3092.
- Donovan, B. J., 1980. Interactions Between Native and Introduced Bees in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, Volume 3, pp. 104-116.
- Donovan, B. J. & Wier, S. S., 1978. Development of hives for field population increase, and studies of the life cycle of the four species of introduced bumble bees in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 21(4), pp. 733-756.
- Dornhaus, A., Brockmann, A. & Chittka, L., 2003. Bumble bees alert to food with pheromone from tergal gland. *Journal of Comparative Physiology*, 189(1), pp. 47-51.
- Encyclopaedia Britannica, s.d. *Encyclopaedia Britannica*. [Online]
Available at: <https://www.britannica.com>
[Acedido em 26 Janeiro 2018].
- Eppinger, M. & Hofmann, H., 2008. *Plantas Medicinais*. Rio de Mouro: Everest Editora.
- Falk, S., 2015. *Field Guide to the Bees of Great Britain and Ireland*. London: Bloomsbury Publishing Plc.
- Gardenia, s.d. *Gardenia Creating Gardens*. [Online]
Available at: <https://www.gardenia.net/plants/plant-family/agapanthus -- african-lilies>
[Acedido em 29 Setembro 2018].

- Geslin, B. & Morales, C. L., 2015. New records reveal rapid geographic expansion of *Bombus terrestris* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), an invasive species in Argentina. *Check List*, 11(3), pp. 1620-1620.
- Goka, K., 2010. Introduction to the Special Feature for Ecological Risk Assessment of Introduced Bumblebees: Status of the European bumblebee, *Bombus terrestris*, in Japan as a beneficial pollination and an invasive alien species. *Applied Entomology and Zoology*, 45(1), pp. 1-6.
- Goka, K., Okabe, K. & Yoneda, M., 2006. Worldwide migration of parasitic mites as a result of bumblebee commercialization. *Population Ecology*, 48(4), pp. 285-291.
- Goka, K., Okabe, K., Yoneda, M. & Niwas, S., 2001. Bumblebee commercialization will cause worldwide migration of parasitic mites. *Molecular Ecology*, Volume 10, pp. 2095-2099.
- Goulson, D., 2003. Effects of Introduced Bees on Native Ecosystems. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, Volume 34, pp. 1-26.
- Goulson, D., 2010. *Bumblebees - Behaviour, ecology and conservation*. 2º ed. New York: Oxford University Press Inc..
- Goulson, D., 2010. Impacts of non-native bumblebees in Western Europe and North America. *Applied Entomology and Zoology*, Volume 45 (1), pp. 7-12.
- Goulson, D. & Hanley, M. E., 2004. Distribution and forage use of exotic bumblebees in South Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 28(2), pp. 225-232.
- Goulson, D. & Stout, J. C., 2001. Homing ability of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, Volume 32, pp. 105-111.
- Goulson, D., Stout, J. & Kells, A. R., 2002. Do alien bumblebees compete with native flower-visiting insects in Tasmania?. *Journal of Insect Conservation*, 6(3), pp. 179-189.
- Goulson, D., Stout, J. & Kells, A. R., 2002. Do exotic bumblebees and honeybees compete with native flower-visiting insects in Tasmania?. *Journal of Insect Conservation*, Volume 6, pp. 179-189.
- Hines, H. M., 2008. Historical Biogeography, Divergence Times, and Diversification Patterns of Bumble Bees (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*). *Systematic Biology*, Volume 57, pp. 58-75.

Hingston, A. B., 2005. Does the introduced bumblebee, *Bombus terrestris* (Apidae), prefer flowers of introduced or native plants in Australia?. *Australian Journal of Zoology*, Volume 53, pp. 29-34.

Hingston, A. B., 2006. Is the exotic bumblebee *Bombus terrestris* really invading Tasmanian native vegetation?. *Journal of Insect Conservation*, Volume 10, pp. 289-293.

Hingston, A. B., Herrmann, W. & Jordan, G. J., 2006. Reproductive success of a colony of the introduced bumblebee *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae) in a Tasmanian National Park. *Australian Journal of Entomology*, Volume 45, pp. 137-141.

Hingston, A. B. & McQuillan, P. B., 1998. Does the recently introduced bumblebee *Bombus terrestris* (Apidae) threaten Australian ecosystems?. *Australian Journal of Ecology*, 23(6), pp. 539-549.

Hingston, A. H. et al., 2002. Extent of invasion of Tasmanian native vegetation by the exotic bumblebee *Bombus terrestris* (Apoidea: Apoidea). *Austral Ecology*, Volume 27, pp. 162-172.

Hogendoorn, K., Coventry, S. & Keller, M. A., 2007. Foraging behaviour of a blue banded bee, *Amegilla chlorocyanea* in greenhouses: implications for use as tomato pollinators. *Apidologie*, Volume 38, pp. 86-92.

Hogendoorn, K., Steen, Z. & Schwarz, M. P., 2000. Native Australian carpenter bees as a potential alternative to introducing bumble bees for tomato pollination in greenhouses. *Journal of Apicultural Research*, 39(1-2), pp. 67-74.

Inari, N. et al., 2005. Spatial and temporal pattern of introduced *Bombus terrestris* abundance in Hokkaido, Japan, and its potential impact on native bumblebees. *Population Ecology*, Volume 47, pp. 77-82.

Ings, T. C., Raine, N. & Chittka, L., 2005. Mating preference in the commercially imported bumblebee species *Bombus terrestris* in Britain (Hymenoptera: Apidae). *Entomologia Generalis*, 28(3), pp. 233-238.

Ings, T. C., Schikora, J. & Chittka, L., 2005. Bumblebees, humble pollinators or assiduous invaders? A population comparison of foraging performance in *Bombus terrestris*. *Oecologia*, Volume 144, pp. 508-516.

Ings, T. C., Ward, N. L. & Chittka, L., 2006. Can commercially imported bumble bees out-compete their native conspecifics?. *Journal of Applied Ecology*, Volume 43, pp. 940-948.

- Inoue, M. N., Yokoyama, J. & Washitani, I., 2008. Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*, 12(2), pp. 135-146.
- Inouye, D., 1980. The Terminology of Floral Larceny. *Ecology*, 61(5), pp. 1251-1253.
- Inouye, D., 1983. The ecology of nectar robbing. Em: T. S. Elias & B. Bentley, edits. *The Biology of Nectaries*. New York: Columbia University Press, pp. 153-173.
- Irwin, R. E. & Brody, A. K., 1999. Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis Aggregata* (Polemoniaceae). *Ecology*, 80(5), pp. 1703-1712.
- Ish-am, G. et al., 1998. Improving avocado pollination with bumblebees: 3 seasons summary. *California Avocado Society*, Volume 84, pp. 119-135.
- ITIS, s.d. *Integrated Taxonomic Information System*. [Online]
Available at:
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=714842#null
[Acedido em 10 Agosto 2018].
- Jardins Sintra, s.d. *Jardins Sintra*. [Online]
Available at: <https://jardinssintra.pt/agapanthus-africanus/>
[Acedido em 29 Setembro 2018].
- Kanbe, Y. et al., 2008. Interspecific mating of the introduced bumblebee *Bombus terrestris* and the native Japanese bumblebee *Bombus hypocrita sapporoensis* results in inviable hybrids. *Naturwissenschaften*, 95(10), pp. 1003-1008.
- Kawakita, A. et al., 2004. Phylogeny, Historical Biogeography, and Character Evolution in Bumble Bees (*Bombus*: Apidae) Based on Simultaneous Analysis of Three Nuclear Gene Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Volume 31, pp. 799-804.
- Kondo, N. I. et al., 2009. Reproductive disturbance of Japanese bumblebees by the introduced European bumblebee *Bombus terrestris*. *Naturwissenschaften*, 96(4), pp. 467-475.
- Kwon, Y. J. & Saeed, S., 2003. Effect of temperature on the foraging activity of *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) on greenhouse hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Applied Entomology and Zoology*, Volume 38, pp. 275-280.
- Løken, A., 1973. Studies on Scandinavian Bumble Bees (Hymenoptera, Apidae). *Norwegian Journal of Entomology*, Volume 20, pp. 1-220.

- Macdonald, M. & Nisbet, G., 2006. *Highland Bumblebees: distribution, ecology and conservation*. Inverness: Highland Biological Recording Group.
- Macfarlane, R. P., 1995. Distribution of bumble bees in New Zealand. *New Zealand Entomologist*, Volume 18, pp. 29-36.
- Mack, R. N. et al., 2000. Biotic Invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences, and Control. *Ecological Applications*, 10(3), pp. 689-710.
- Matsumura, C., Yokoyama, J. & Washitani, I., 2004. Invasion status and potential ecological impacts of an invasive alien bumblebee, *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) naturalized in southern Hokkaido, Japan. *Global Environmental Research*, 8(1), pp. 51-66.
- McDade, L. A. & Kinsman, S., 1980. The impact of floral parasitism in two neotropical hummingbird-pollinated plant species. *Evolution*, 34(5), pp. 944-958.
- Michener, C. D., 2007. *The Bees of the World*. 2^a ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- Morandin, L. A., Lavery, T. M. & Kevan, P. G., 2001. Bumble Bee (Hymenoptera: Apidae) Activity and Pollination Levels in Commercial Tomato Greenhouses. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), pp. 462-467.
- Morandin, L. A., Lavery, T. M. & Kevan, P. G., 2001. Effect of Bumble Bee (Hymenoptera: Apidae) Pollination Intensity on the Quality of Greenhouse Tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), pp. 172-179.
- Murray, T. E., Fitzpatrick, Ú., Brown, M. J. F. & Paxton, R. J., 2008. Cryptic species diversity in a widespread bumble bee complex revealed using mitochondrial DNA RFLPs. *Conservation Genetics*, 9(3), p. 653+666.
- Ortiz, C. & Swinderman, J., 2012. *Eusocial & Colony Behaviour in Ants*. [Online] Available at:
https://www.reed.edu/biology/courses/BIO342/2012_syllabus/2012_WEBSITES/COJS_animalBehavior/index2.html
[Acedido em 23 Abril 2018].
- Osborne, J. L. et al., 2008. Bumblebee flight distances in relation to the forage landscape. *Journal of Animal Ecology*, 77(2), pp. 406-415.

Pérez, V., 2013. Introducción de *Bombus* (*Bombus*) *terrestris* (Linnaeus, 1758) (*Hymenoptera: Apidae*) en la región de Magallanes: Potencial riesgo para las abejas nativas. *Anales Instituto Patagonia (Chile)*, 41(1), pp. 147-152.

Plantar Portugal, s.d. *Plantar Portugal*. [Online]

Available at: <http://www.plantarportugal.org/index.php/bolbos-flores/agapanthus-azul.html>

[Acedido em 29 Setembro 2018].

Plants for a Future, s.d. *Plants for a Future*. [Online]

Available at: <https://pfaf.org/user/plant.aspx?latinname=Viola+tricolor>

[Acedido em 29 Setembro 2018].

Plowright, R. C. & Lavery, T. M., 1987. Bumble Bees and Crop Pollination in Ontario. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, Volume 118, pp. 155-160.

Pomeroy, N. & Fisher, R. M., 2002. Pollination of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) by bumble bees (*Bombus terrestris*): effects of bee density and patterns of flower visitation. *New Zealand Entomologist*, Volume 25, pp. 41-49.

Procheş, Ş. & Ramdhani, S., 2012. The World's Zoogeographical Regions Confirmed by Cross-Taxon Analyses. *BioScience*, Volume 62, pp. 260-270.

Prys-Jones, O. E. & Corbet, S. A., 2014. *Bumblebees*. 3^a ed. Exeter: Pelargic Publishing.

Ramsey, M. W., 1988. Differences in pollinator effectiveness of birds and insects visiting *Banksia menziesii* (*Proteaceae*). *Oecologia*, 76(1), pp. 119-124.

Rasmont, P., 1984. Les bourdons du genre *Bombus* Latreille sensu stricto en Europe Occidentale et Centrale. *Spixiana*, Volume 7, pp. 135-160.

Rasmont, P., Coppée, A., Michez, D. & Meulemeester, T., 2008. An overview of the *Bombus terrestris* (L.1758) subspecies (*Hymenoptera: Apidae*). *Annales de la Société Entomologique de France*, Volume 44, pp. 243-250.

Rasmont, P. & Iserbyt, S., 2013. *Atlas of the European Bees: genus Bombus*. [Online]

Available at: <http://www.atlashymenoptera.net/page.asp?id=169>

[Acedido em 15 Fevereiro 2018].

Roubik, D. W., 1982. The ecological impact of nectar-robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology*, 63(2), pp. 354-360.

Roubik, D. W., Holbrook, N. M. & V., G. P., 1985. Roles of nectar robbers in reproduction of the tropical treelet *Quassia amara* (Simaroubaceae). *Oecologia*, 66(2), pp. 161-167.

Royal Horticultural Society, s.d. *Royal Horticultural Society*. [Online]
Available at: <https://www.rhs.org.uk/Plants/14886/Rhododendron-arboreum/Details>
[Acedido em 29 Setembro 2018].

Royal Horticultural Society, s.d. *Royal Horticultural Society*. [Online]
Available at: https://www.rhsplants.co.uk/plants/_agapanthus-africanus/classid.195/
[Acedido em 29 Setembro 2018].

Ruz, L., 2002. Bee pollinators introduced to Chile: A review. Em: P. G. Kevan & V. L. Imperatriz-Fonseca, edits. *Pollinating Bees - The Conservation Link Between Agriculture and Nature*. Brasília: Ministry of Environment, pp. 155-167.

Sadeh, A., Shmida, A. & Keasar, T., 2007. The carpenter bee *Xylocopa pubescens* as an agricultural pollinator in greenhouses. *Apidologie*, 38(6), pp. 508-517.

Semmens, T., 1998. New flowers visited by Bumble Bees. Em: B. Mesibov, ed. *Invertebrata*. Launceston: Queen Victoria Museum and Art Gallery, p. 9.

Semmens, T. D., Turner, E. & Buttermore, R., 1993. *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae) now established in Tasmania. *Journal of the Australian Entomological Society*, Volume 32, p. 346.

Serralves, s.d. *Serralves*. [Online]
Available at: <http://serralves.ubiprism.pt/species/show/1104>
[Acedido em 29 Setembro 2018].

Sladen, F. W. L., 1912. *The Humble-Bee - Its Life-History and How to Domesticate it*. London: Macmillan and co, Limited.

Stoddard, F. L. & Bond, D. A., 1987. The Pollination Requirements of the Faba Bean. *Bee World*, Volume 68, pp. 144-152.

Stout, J. C., Allen, J. A. & Goulson, D., 1998. The influence of relative plant density and floral morphological complexity on the behaviour of bumblebees. *Oecologia*, 117(4), pp. 543-550.

Stout, J. C., Allen, J. A. & Goulson, D., 2000. Nectar robbing, forager efficiency and seed set: Bumblebees foraging on the self incompatible plant *Linaria vulgaris* (Scrophulariaceae). *Acta Oecologica*, 21(4-5), pp. 277-283.

- Stout, J. C. & Goulson, D., 2000. Bumble bees in Tasmania: their distribution and potential impact on Australian flora and fauna. *Bee World*, 81(2), pp. 80-86.
- Stout, J. C., Kells, A. R. & Goulson, D., 2002. Pollination of the invasive exotic shrub *Lupinus arboreus* (Fabaceae) by introduced bees in Tasmania. *Biological Conservation*, Volume 106, pp. 425-434.
- Thomson, J. D. & Goodell, K., 2001. Pollen removal and deposition by honeybee and bumblebee visitors to apple and almond flower. *Journal of Applied Ecology*, Volume 38, pp. 1032-1044.
- UTAD, s.d. *UTAD Jardim Botânico*. [Online]
Available at: [https://jb.utad.pt/especie/Camellia japonica var japonica](https://jb.utad.pt/especie/Camellia_japonica_var_japonica)
[Acedido em 29 Setembro 2018].
- UTAD, s.d. *UTAD Jardim Botânico*. [Online]
Available at: [https://jb.utad.pt/especie/Acanthus mollis](https://jb.utad.pt/especie/Acanthus_mollis)
[Acedido em 29 Setembro 2018].
- UTAD, s.d. *UTAD Jardim Botânico*. [Online]
Available at: [https://jb.utad.pt/especie/Agapanthus africanus](https://jb.utad.pt/especie/Agapanthus_africanus)
[Acedido em 29 Setembro 2018].
- van den Eijnde, J. & de Ruijter, A., 1991. The use of bumblebee (*Bombus terrestris* L.) for pollination of glasshouse tomatoes. *Proceedings of the Netherlands Entomological Society*, Volume 2, pp. 129-130.
- van der Eijnde, J., de Ruijter, A. & van der Steen, J., 1991. Method for rearing *Bombus terrestris* continuously and the production of bumblebee colonies for pollination purposes. *Acta Horticulturae*, Volume 288, pp. 154-158.
- Van Wilgenburg, E., Driessen, G. & Beukeboom, L. W., 2006. Single locus complementary sex determination in *Hymenoptera*: an "unintelligent" design?. *Frontiers in Zoology*, 3(1).
- Velthuis, H. H. & Doorn, A. v., 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, Volume 37, pp. 421-451.
- Velthuis, H. H. W., 2002. The Historical Background of the Domestication of the Bumble-Bee, *Bombus terrestris*, and its Introduction in Agriculture. Em: P. G. Kevan & V. L. Imperatriz-Fonseca, edits. *Pollinating Bees - The Conservation Link Between Agriculture and Nature*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, pp. 177-184.

- Walther-Hellwig, K. & Frankl, R., 2000. Foraging habitats and foraging distances of bumblebees, *Bombus spp.* (Hym., Apidae), in an agricultural landscape. *Journal of Applied Entomology*, 124(7-8), pp. 299-306.
- Whittington, R., Winston, M. L., Tucker, C. & Parachnowitsch, A. L., 2004. Plant-species identity of pollen collected by bumblebees placed in greenhouses for tomato pollination. *Canadian Journal of Plant Science*, 84(2), pp. 599-602.
- Williams, P. H., 1985. A preliminary cladistic investigation of relationships among the bumble bees (Hymenoptera, Apidae). *Systematic Entomology*, Volume 10, pp. 239-255.
- Williams, P. H. et al., 2008. A Simplified Subgeneric Classification of the Bumblebees (genus *Bombus*). *Apidologie*, Volume 39, pp. 46-74.
- Willmer, P. G., Bataw, A. A. M. & Hughes, J. P., 1994. The superiority of bumblebees to honeybees as pollinators: insect visits to raspberry flowers. *Ecological Entomology*, 19(3), pp. 271-284.
- Winter, K. et al., 2006. Importation of Non-Native Bumble Bees into North America: Potencial Consequences of Using *Bombus terrestris* and Other Non-Native Bumble Bees for Greenhouse Crop Pollination in Canada, Mexico, and the United States. *North American Pollinator Protection Campaign*, p. 33.
- Yoneda, M. et al., 2007. Preventing *Bombus terrestris* from escaping with a net covering over a tomato greenhouse in Hokkaido. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, Volume 51, pp. 39-44.