

Designação do Projeto	EUCLIPO: Efeitos da eutrofização e clima nos polinizadores e provisão de serviços dos ecossistemas
Código do Projeto	LISBOA-01-0145-FEDER-028360
Objetivo Principal	Objectivos_Científicos maximizar a provisão de serviços ecossistêmicos
Região de Intervenção	Lisboa
Entidade Beneficiária	FCiências.ID – Associação para a Investigação e Desenvolvimento de Ciências
Data de Aprovação	28-05-2018
Data de Início	01-07-2018
Data de Conclusão	30-06-2021
Custo Total Elegível	239.990,85€
Apoio Financeiro da União Europeia	FEDER – 95.996,34€
Apoio Financeiro Público Nacional/ Regional	OE – 143.994,51€

## Objetivos

---

- (1) Compreender como as três principais fontes de eutrofização (indústria, fertilização agrícola e gado) afeta, os padrões de comportamento dos polinizadores, em diferentes condições climáticas
- (2) Avaliar se os efeitos da eutrofização no comportamento dos polinizadores são mediados por alterações nos recursos florais
- (3) Avaliar se espécies com maior fluxo génico são mais resistentes a alterações na disponibilidade e qualidade de recursos florais causadas pela eutrofização
- (4) Avaliar se a eutrofização afeta o défice de polinização das espécies agrícolas e a provisão de serviços de ecossistemas, sob diferentes condições climáticas

## Atividades

---

- (1) Montar bases de dados de visitação floral e ocorrência de abelhas e bases de dados com informação ambiental



- (2) Análises de redes de interações e desenvolvimento de um modelo preditivo para o comportamento de visitação floral dos polinizadores
- (3) Análises de resposta de comunidades de plantas-insetos aos tratamentos de fertilização
- (4) Definição de locais de amostragem, coleta de indivíduos para as análises genéticas
- (5) Sequenciação RAD
- (6) Análise estatística dos dados genéticos
- (7) Montagem de base de dados sobre serviços de polinização
- (8) Análise estatística dos dados de polinização

## Resultados Esperados / Atingidos

---

Atividade 1 - (finalizada) 67 Bases de dados de redes de interação planta-visitante floral compiladas e padronizadas; extração de informação climática e sobre as três fontes de eutrofização (industrial, gado e agricultura) para cada local de estudo.

Atividade 2 – (em andamento) Cálculo do índice de Muller (contribuição para a dieta dos polinizadores de uma planta) para todos os pares de espécies de plantas; Caracterização do nível de nitrofilia realizado para 196 espécies de abelhas europeias (com a contribuição dos colaboradores Denis Michez e Markus Franzen); Avaliação do impacto da dieta nos padrões de alteração de diversidade de abelhas; artigo em revisão na *Ecography*

Atividade 3 - (em andamento) estabelecimento de projeto com a rede de colaboradores NutNet para coleta de dados de floração, visitação floral e frutificação em parcelas submetidas a tratamentos diferentes em Portugal, Holanda, Alemanha, Brasil, Argentina, EUA e Canadá; montagem de experiência de fertilização em vasos com 6 tratamentos (N-P-; N+P-; N++P-; N-P+-; N+P+; N++P+) no Cerrado (Brasil); definição de local de montagem de experiência de fertilização em vasos em Portugal.

Atividade 4 – (finalizado) A amostragem foi feita pensando em duas questões: 1) Expansão agrícola afeta a estrutura genética de abelhas solitárias? (Bolsa Lic André), 2) Correlacionar a estrutura populacional com várias características biológicas (ex. tamanho, nº gerações, tipo de alimentação, etc.) (Bolsa Lic Paulo).

Para a questão 1, em 2019 foram amostrados 14 locais, organizados num gradiente de agricultura. (Alcobaça, Arruda dos Vinhos, Assafora, Bombarral, Caldas da Rainha, Nazaré, Turcifal, Foros de Vale Figueira, Ferreira do Zêzere, Malcata, Marinha Grande, Odeceixe, Sintra e São Mamede). Em cada um destes locais foram



capturados 6 indivíduos das três espécies alvo (*Bombus terrestris*, *Andrena flavipes* e *Lasioglossum malachurum*), num total de 274.

Para a questão 2, foram amostrados 15 locais (Galiza, Andaluzia, Guadalajara, Castilha-La-Mancha, Andaluzia, Serras Bécicas, Catalunha, Jaca, Bejar, São Mamede, Malcata, Ferreira do Zêzere, Marinha Grande, Odeceixe e Sintra). Em cada local foram capturados, idealmente 4 indivíduos, de *Andrena flavipes* (52 ind.) e *Lasioglossum malachurum* (38 ind.), *Andrena agilissima* (20 ind.), *Bombus pascuorum* (13 ind), *Xylocopa violacea* (8 ind) bem como outras espécies de *Andrena* (37 ind.), *Lasioglossum* (10 indiv.) e *Eucera* (17 ind.) que ainda não foram identificadas. Conseguindo um total de 195 indivíduos.

Os indivíduos foram capturados utilizando redes entomológicas, mortos no local com recurso a etanol 98% e conservados também em etanol a 98%. Fez-se um esforço por capturar apenas fêmeas, uma vez que para estas análises genéticas é mais rentável os indivíduos serem diploides.

#### Atividade 5 – (em andamento)

O DNA dos indivíduos coletados foi extraído utilizando o Blood and Tissue Kit da Quiagen. Seguidamente o gene mitocondrial COI (citocromo C oxidase subunidade I) foi amplificado e purificado para DNA barcoding. Estas análises irão permitir confirmar a identidade dos indivíduos capturados. A sequenciação do COI é feita pela empresa MacroGen Spain. Por fim será montada uma placa de 384 poços e enviada para a empresa de sequenciação CD Genomics.

#### Atividade 6 – (não iniciada)

Para ambas as questões (1 e 2) mencionadas nas atividades anteriores será inicialmente realizado uma análise da estruturação e diversidade genética das populações.

Para a questão 1 (Bolsa Lic André) serão realizados testes de deteção de seleção ( $F_{st}$  outliers) e Environmental Association Analysis, que permitam identificar loci que estejam sobre o efeito de seleção e que possam estar a ser selecionados no ambiente agrícola.

Para a questão 2 (Bolsa Lic Paulo) serão realizados testes da Mantel que permitem correlacionar a distância geográfica com a distância genética e talvez uma anova que



me permita testar a relação entre a existência/grau de estrutura populacional e o tamanho dos indivíduos. Posteriormente serão aplicados modelos lineares para avaliar como os atributos funcionais das espécies explicam os padrões de diversidade genética.

Atividade 7 – (em andamento) base de dados compilada para Reino Unido (UK) e Holanda (NL). Coleta de dados em Portugal (PT) e França (F) será terminada em Junho de 2020. Bases de dados climáticos e de níveis de eutrofização devido a indústria (PT, UK, NL) e agricultura (UK, NL) estarão terminadas em Dezembro de 2019. Em Inglaterra obtivemos informação de 29 locais de amostragem, de 3 regiões distintas. Para a Holanda obtivemos dados de 30 locais de amostragem de uma única região.

Atividade 8 – (não iniciada) início de análise de dados previsto para Dezembro de 2019, sendo a finalização prevista para Dezembro de 2020.

