

FENOLOGÍA Y OFERTA FLORAL DE TRÉBOL ROJO *Trifolium pratense* (Fabales: Fabaceae) EN PRADERAS DE KIKUYO *Penissetum clandestinum* (Poales: Poaceae), COMO FUENTE ALIMENTO PARA *Bombus atratus* (Hymenoptera, Apoidea) EN CAJICÁ, COLOMBIA

Fecha de recepción: 14 de enero de 2012 • Fecha de aceptación: 12 de mayo de 2012

PHENOLOGY AND FLORAL OFFERING OF THE RED CLOVER *Trifolium pratense* (Fabales: Fabaceae), IN *Pennisetum clandestinum* GRASSLANDS (Poales: Poaceae) AS A FOOD SUPPLY FOR *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apoidea) IN CAJICÁ, COLOMBIA

Juan David Lobatón¹ • José Ricardo Cure^{2,3} • María Teresa Almanza⁴

RESUMEN

Durante 14 meses se evaluó el desarrollo del trébol rojo (*Trifolium pratense*) sembrado a partir de semillas en una parcela de kikuyo (*Penissetum clandestinum*) de 100 m² recientemente podado en Cajicá (Cundinamarca, Colombia). Se tomaron informaciones sobre porcentaje de cobertura, oferta floral y fenología floral. Estas variables fueron relacionadas con datos climáticos mensuales de temperatura máxima y mínima del aire, promedio de humedad relativa y precipitación mensual total. La relación entre la oferta floral y los eventos climáticos es descrita. Se hacen comentarios sobre la importancia de la precipitación en la fenología del trébol y se muestran datos fenológicos mensuales que son fundamentales para entender la contribución de *T. pratense* al establecimiento de especies polinizadoras como *Bombus atratus*.

Palabras clave: Trébol Rojo, inflorescencia, Cobertura, abejorros, nativos, precipitación.

1 Biólogo. Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia.

2 Docente-Investigador. Programa de Biología Aplicada. Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia.

3 Autor para correspondencia: jose.cure@unimilitar.edu.co.

4 Zentrum für Entwicklungsforschung ZEF-University of Bonn

ABSTRACT

Red clover (*Trifolium pratense*) development was evaluated for 14 months in a recently cutted *Penisetum clandestinum* patch of 100 m² located in Cajicá (Cundinamarca, Colombia). Percentage of coverage, floral offer and floral phenology were collected. These variables were related with monthly climate data as maximum and minimum air temperature, relative humidity and precipitation. The relationship between the floral offer and the climate events was described. Commentaries about the importance of precipitation events in the clover phenology were made. Monthly phenological data are basic to understand the contribution of *T. pratense* to the establishment of native pollinators like *Bombus atratus*.

Key words: Red Clover, Inflorescence, Coverage, Native, Bumblebee, precipitation.

INTRODUCCIÓN

El trébol rojo *Trifolium pratense* L. (1753), es una leguminosa herbácea de polinización cruzada, ampliamente distribuida en el mundo. Está presente en el Norte de África, Europa, Asia y América (Hopkins 1914, McGregor 1976, Brown y Scott 1992, Correa 2006). Esta planta es reconocida por su rápido crecimiento y capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, debido a bacterias nitrificantes del género *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Bacillus* y *Curtubactrium*, que realizan asociaciones, en nódulos ubicados en sus raíces (Shuel 1951, Sturz et al., 1997).

Se reconoce por sus finas hojas trifoliadas e inflorescencias en capítulo de 2 a 4 cm de diámetro de color rosado (McGregor 1976, Rebolledo et al., 2004). En Colombia es introducida y se conoce con el nombre de carretón. Se encuentra en zonas ubicadas a más de 1.800 metros sobre el nivel del mar y se utiliza en programas de renovación de pastos para la ganadería. Su comercialización está directamente relacionada con el aporte de proteínas y minerales para la nutrición ganadera (Correa 2006). Las flores de *T. pratense* son completamente auto-estériles y por tanto para una exitosa polinización y producción de semillas, un insecto forrajero debe transferir polen de una planta a otra (Bohart 1957, Bissuel-Belaygue

et al. 2002, Damgard et al., 2007). Se reconocen los abejorros del género *Bombus*, particularmente las especies de lengua larga, como los más efectivos polinizadores del trébol rojo a nivel mundial (Free 1965, Holm 1966, Barrow & Pickard 1984, Hayo & van Doorm 2004). En Nueva Zelanda y Chile se utilizan comercialmente colonias de *B. ruderatus* para polinización de *Trifolium* y se ha estudiado *B. hortuorum*, que al igual que el anterior también es de lengua larga para aumentar la oferta de polinizadores en ese cultivo (Donovan 1993).

En el caso de los tréboles rojos ubicados en las intermediaciones de la Sabana de Bogotá, se encuentran abejas *Apis mellifera* y abejorros nativos como *Bombus hortulanus* y *B. atratus*, que visitan estas inflorescencias en busca de néctar y polen a lo largo del año (Cruz, 2000, Cruz et al., 2007). Este último es un abejorro domesticable y hemos avanzado en su utilización en programas de polinización dirigida para cultivos de tomate y lulo bajo invernadero en la Sabana de Bogotá (Aldana et al. 2007; Almanza 2007).

El objetivo de este trabajo fue adaptar la metodología existente para la construcción de un calendario floral de *T. pratense* en la sabana de Bogotá, mediante el registro sencillo de datos fenológicos

cuantitativos, de cobertura y oferta floral, relacionada con eventos climáticos (Morellato *et al.* 2010). Se busca con el trabajo identificar los períodos del año en que se da la floración, relacionándola con los promedios mensuales de las temperaturas máximas y mínimas del aire, el porcentaje de humedad relativa y la precipitación total.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo entre marzo de 2007 y junio de 2008 en el Campus de la Universidad Militar Nueva Granada ubicado en el municipio de Cajicá a 2.558 msnm. La zona se caracteriza por un régimen bimodal de lluvias, acentuado en los períodos marzo-abril y septiembre-noviembre. Tiene una humedad relativa promedio anual de 85% y una precipitación promedio anual entre 650 y 800 mm. La temperatura máxima promedio anual es de 21° C y la mínima promedio anual de 8° C.

Datos Climáticos

Los datos climáticos de temperaturas promedio máximas y mínimas del aire, porcentaje de humedad relativa y precipitación total mensual, fueron obtenidos de la base de datos de la Estación Climática del Campus de la Universidad Militar Nueva Granada en Cajicá, ubicada a 300 metros de distancia de la parcela. Los datos meteorológicos obtenidos fueron analizados mensualmente durante abril de 2007 y junio de 2008 mientras se realizaba el seguimiento fenológico. Los datos climáticos se compararon con los años anteriores desde la instalación de la estación meteorológica en 2004.

Durante el período de estudio en el área evaluada se determinó el efecto de la variabilidad climática mensual de la región, comparándola con los eventos fenológicos cuantitativos y cualitativos de la fenología floral, el porcentaje de cobertura y la oferta floral de *T. pratense*.

Cobertura y oferta floral de *Trifolium pratense*

El experimento se realizó en un campo de pastaje mayoritariamente cubierto por pasto kicuyo (*Penisetum clandestinum*), el cual fue cortado con podadora y recogido dos días antes de realizar las siembras de *T. pratense*. El 31 de marzo de 2007, se sembraron 250 gramos de semillas de *T. pratense* adquiridas a través de un proveedor comercial local (Impulsemillas®) en un área de 10m x10m (100 m²). El área de estudio se mantuvo bajo condiciones ambientales naturales: sin riego y sin fertilización. Un año más tarde, al finalizar la temporada seca del año, se realizó una poda para la recolección de forraje.

Para determinar el desarrollo del porcentaje de cobertura y de oferta floral promedio de *T. pratense* se realizaron tres muestreos mensuales, donde una rejilla de 1 m² dividida en 100 partes iguales, se lanzaba al azar dentro de la parcela con un n=5 (número de lanzamientos de la rejilla en cada muestreo). En cada lanzamiento se midió el porcentaje de cobertura y la oferta floral representada en el número de cabezuelas florales y su estado de madurez. El valor final del porcentaje de cobertura y la oferta floral fue tomado del promedio mensual a partir del promedio en cada muestreo.

Fenología de la inflorescencia

Se realizó un seguimiento diario de 100 cabezuelas florales ubicadas dentro de la parcela. Las cabezuelas florales son estructuras pubescentes con forma ovalada de color verde, nacen en el centro de la hoja trifoliada y se forman en el ápice del tallo (McGregor, 1976). Estas estructuras van madurando y las flores abiertas que van apareciendo son atractivas para las abejas y abejorros que las visitan para obtener polen y néctar. Cada cabezuela fue marcada y se le realizó un seguimiento diario durante 29 días en diciembre de 2007. Dependiendo del número de

flores maduras presentes en la cabezuela se le asignaba un estado de 1 a 10 definido de acuerdo a una escala fotográfica así (Fig. 1): 1) *Primordio floral*, el botón floral aún se encuentra cubierto por hojas y es casi imperceptible a la vista, solo se puede reconocer al tacto, porque se forma un abultamiento entre las hojas que lo recubren; 2) *inflorescencia inmadura etapa 1*, es un botón que no se encuentra cubierto por hojas y es visible, se caracteriza por ser pubescente y mantener coloración verde; 3) *inflorescencia inmadura etapa 2*, es un botón que ya muestra flores cerradas de color rosado; 4) *inflorescencia madura etapa 1*, es el cambio de botón a flor madura, se identifica cuando se abre la primera flor y por la coloración rosa más fuerte; 5) *inflorescencia madura etapa 2*, se presenta cuando la proporción de flores abiertas en la inflorescencia es mayor al 50% respecto a las que se encuentran cerradas; 6) *inflorescencia madura etapa 3*, es el estado de la inflorescencia madura en la cual solo le quedan las flores apicales por abrir; 7) *inflorescencia madura etapa 4*, es el estado de la inflorescencia en el cual la totalidad de sus flores están abiertas, pudiendo apenas una que otra flor marchita, es poco frecuente porque la mayoría de las flores que abren primero en la etapa 4 se marchitan antes que abran todas las flores de la inflorescencia y en particular las flores apicales; 8) *inflorescencia madura etapa 5*, es el estado de la inflorescencia madura donde aparecen las primeras flores senescentes claramente visible, generalmente en la parte basal; 9) *inflorescencia madura etapa 6*, es el estado de la inflorescencia madura en el cual más de la mitad de sus flores están marchitas pero aún quedan algunas flores apicales abiertas; 10) *inflorescencia senescente*, es el estado de la inflorescencia en el cual todas sus flores se encuentran marchitas.

Para efectos de la discusión se definieron grupos de estados: inmaduros (estados 1 a 3), maduros, disponibles para los abejorros (estados 4 a 9) y

senescentes (estado 10). Se calculó indirectamente el número de días que permanece una flor disponible para las abejas, asumiendo que una flor que abre en el estado 4 ya está marchita en el estado 7.



Figura 1. Caracterización de los estados fenológicos de la inflorescencia de *T. pratense*. Ver texto para la definición de cada uno de los 10 estados.

RESULTADOS

Clima

En el mes de febrero de 2008 se registró la temperatura más alta, 23,6 °C y la más baja, 0,25 °C, del período anual evaluado (entre abril/2007 y julio/2008). El porcentaje promedio de humedad relativa mensual fue de 84%, con una leve disminución durante los meses de enero y febrero de 2008, en los que se registraron porcentajes cercanos al 80%. La precipitación promedio mensual fue de 20,6 mm, con dos picos, el primero durante el mes de agosto de 2007, en el que la cifra alcanzó los 89,8 mm y el segundo, más acentuado, se dio en octubre del mismo año alcanzando 143,2 mm. Los meses de menor precipitación fueron julio/2007, con 17 m y enero y marzo/2008 con cifras de 11 y 0.4 mm, respectivamente. (Fig. 2).

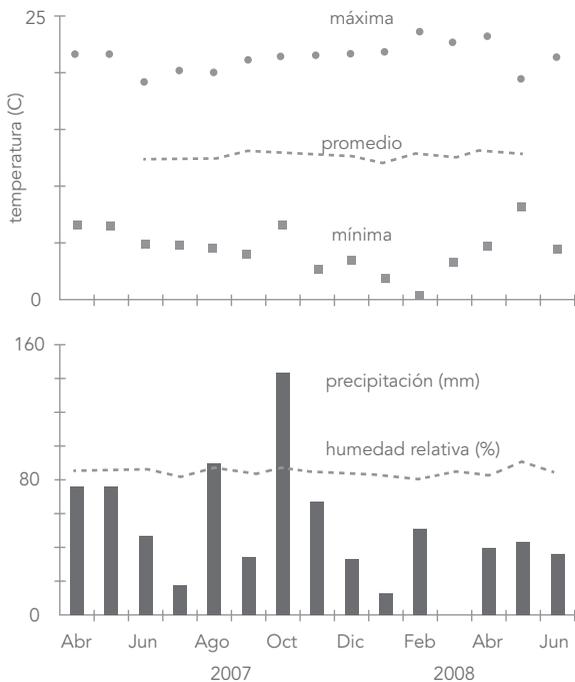


Figura 2. Promedios mensuales de las temperaturas máximas, mínimas y medias y de la precipitación y humedad relativa durante el período de las observaciones.

Porcentaje de cobertura

Durante los primeros tres meses después de la siembra de *T. pratense*, la cobertura vegetal en la parcela experimental era totalmente dominada por *P. clandestinum*, solamente hasta el mes de julio/2007 se evidenció la presencia de cobertura de *T. pratense* en la parcela (Fig. 3). Durante los meses posteriores, agosto, septiembre y octubre/2007, el porcentaje de cobertura aumentó por encima del 20%, alcanzando valores superiores a 80% en noviembre/2007, conservando esta tendencia durante los meses subsiguientes. En el mes de febrero/2008 hay una ligera disminución que se acentúa en los meses de marzo y abril/2008. Esta corresponde con disminuciones en la precipitación, que terminan en la poda que se realizó al finalizar el mes de marzo, para recoger la biomasa vegetal producida en las pasturas. Posterior a la poda se observa un nuevo incremento del porcentaje de cobertura de *T. pratense*, hasta de 80% en los meses de mayo y junio/2008.

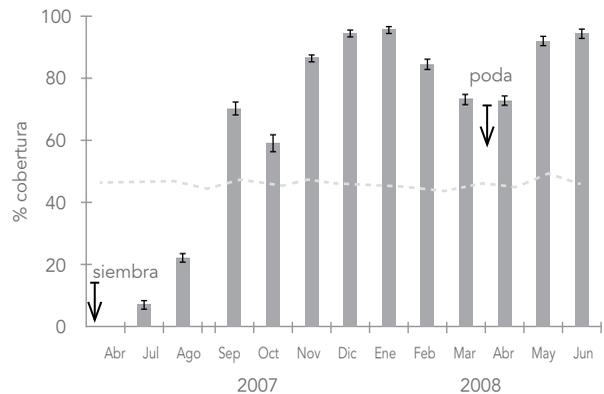


Figura 3. Porcentaje mensual de cobertura de *T. pratense* (promedio por m²). Siembra 31 de marzo de 2007; poda, 31 de marzo de 2008.

A partir del sexto mes después de la siembra, esto es en septiembre/2007, comienzan a aparecer las cabezuelas florales en sus estados 1 a 3 (inmaduras, no visitadas) por encima de 10 cabezuelas inmaduras en

promedio por m² y posteriormente, entre noviembre y diciembre/2007 aparecen las cabezuelas florales en sus estados 4 a 9 (maduras, visitadas), alcanzando valores de 50 cabezuelas maduras en promedio por m², con la particularidad de que en noviembre el número de inflorescencias inmaduras superó a las maduras. Es de resaltar que la poda no se refleja de forma muy drástica en los datos acumulados de floración por mes, puesto que estos ya venían en disminución a partir de febrero/2008; se ha observado que la poda estimula el incremento en el número de cabezuelas maduras en los meses de mayo y junio/2008. En diciembre de 2007 se alcanzó el pico de mayor producción de inflorescencias maduras, con una cifra por encima de 50 inflorescencias por m² (Fig. 4).

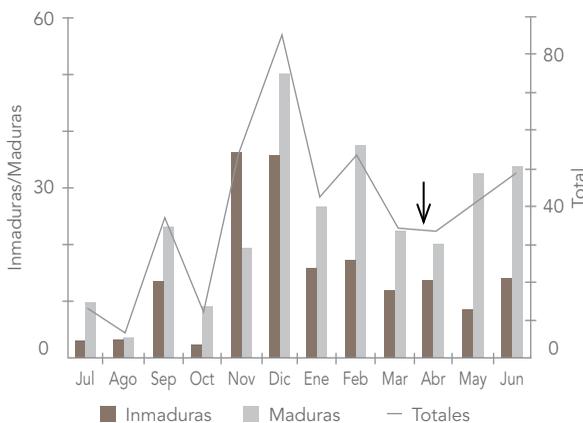


Figura 4. Promedio de inflorescencias (cabezuelas) por metro cuadrado, en los diferentes grupos fenológicos: inflorescencias inmaduras (estados 1 a 3), inflorescencias maduras (estados 4 a 9, visitadas por los abejorros) y oferta total (suma 1 a 9), en la parcela de *T. pratense* durante el ciclo 2007 – 2008. La flecha indica el momento de la poda.

Durante los primeros meses del muestreo no se observaron inflorescencias senescentes, pero ya en septiembre/2007 éstas alcanzaron un valor superior a 30 por m² y durante los meses de enero y febrero/2008, alcanzaron un promedio de 90 cabezas florales senescentes por cada m² sembrado. Posteriormente a la poda es evidente la renovación de la oferta floral en mayo y junio/2008, con la producción continua de cabezuelas florales e inflorescencias maduras.

El ciclo fenológico de la inflorescencia tardó 29 días en promedio (Fig. 5). La fenología muestra un orden en la aparición de las flores dentro de la inflorescencia. Primero aparecen las flores más basales de la cabeza floral, siendo éstas las que inicialmente son visitadas por los polinizadores y también las que primero marchitan. Durante el ciclo, las flores maduras van ocupando primero la base, posteriormente el centro y luego el ápice de la cabeza floral, a medida que las flores senescentes van quedando en la parte basal de la misma. Las últimas flores apicales de la inflorescencia, antes de la senescencia total de la misma también son visitadas por polinizadores (Fig. 1 estado 9).

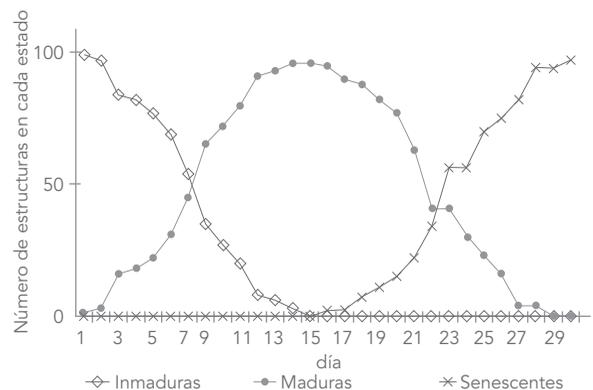


Figura 5. Desarrollo fenológico de la inflorescencia de *Trifolium pratense* por día, desde inmadura (estados 1 a 3) pasando por maduras (estados 4 a 9) hasta llegar a la senescencia completa (estado 10).

DISCUSIÓN

La fenología de floración de muchas plantas en el trópico está sincronizada por la presencia de las lluvias (Opler et al. 1976, Koche 2010). Los resultados obtenidos a lo largo del estudio muestran que la mayor oferta floral de *T. pratense* en praderas de kikuyo se da en el mes de diciembre, esto es, un mes después de la mayor precipitación registrada durante todo el período de observaciones, en el mes de octubre. El año 2007 fue un año “niño” leve. Este fenómeno climático se caracteriza por incremento en

la precipitación en la zona Pacífica y disminución en las zonas Caribe y Andina del país. A esta última zona pertenece la región en donde se realizó el estudio. El cambio principal respecto a la condición climática típica para la región es que no se presentó una alta precipitación en los meses de abril y mayo/2008.

Los extremos de temperatura observados en el mes de febrero/2008 se sitúan en medio del período más seco que termina justamente a finales del mes de marzo, coincidiendo con la poda. Esta poda estimuló un rebrote de estructuras florales en mayo-junio/2008. Los extremos de temperatura observados en febrero redujeron la cobertura de *T.pratense* y su oferta floral, pero es necesario hacer la salvedad de que no se presentaron temperaturas inferiores a 0°C, lo que eventualmente se presenta en la zona y seguramente tiene un efecto mucho más drástico que el observado durante el período del estudio.

Posterior a la primera poda, el crecimiento, rebrote y la germinación de plantas de *T. pratense* es mucho mayor con respecto a la primera siembra. Este rápido crecimiento del porcentaje de cobertura después de las lluvias de abril se debe

probablemente, al aumento de partes vegetativas que pueden brotar en plantas nuevas y por el banco de semillas depositado por las plantas que fueron polinizadas por *B. atratus*. Kricher y Davis (1997) refieren que durante la temporada de mayores precipitaciones las plantas tienen un mayor acceso a los nutrientes para invertir en la producción y mantenimiento de las flores, promoviendo la visita de agentes polinizadores mientras se llega a la temporada seca, en donde la producción de semillas y su esparcimiento toman lugar, hasta la nueva temporada de lluvias, en el cual las semillas tienen acceso al agua requerida para germinar.

Cruz *et al.* (2007) establecen que las temporadas de mayor captura de reinas de abejorros *B. atratus*, en los diferentes municipios de la Sabana de Bogotá, se presentan en los meses de diciembre y enero. Hacia el futuro es necesario entender el potencial que *T.pratense*, planta introducida tiene para complementar el calendario fenológico de oferta floral para *B. atratus*, que ha sido una especie nativa que ha conseguido adaptarse a las modificaciones del paisaje por la ganadería extensiva y utilizarla de forma

Teniendo en cuenta el potencial de *B. atratus* para polinización de cultivos de importancia económica, el carretón tiene un papel adicional a los tradicionalmente mencionados, de gran importancia para el mantenimiento de agroecosistemas de la Sabana de Bogotá.

mas constante en estrategias de conservación, evaluando su utilización como polinizadora de frutales con potencial en la región (Carvell 2002; Hayo & van Doorm, 2006; Carvell et al. 2007; Bradbearn 2009, Jeanneret & Rutishauser 2010). Durante todo el período de muestreo se observaron abundantes visitas de *B. atratus* a las inflorescencias y se mantuvieron colonias muy saludables y bien sucedidas en la zona en donde se realizaron las observaciones.

CONCLUSIÓN

El estudio mostró que bajo las condiciones climáticas presentadas durante las observaciones, correspondientes a un evento climático “niño” moderado, en donde los períodos secos continuos no excedieron a un mes y utilizando una densidad de siembra de 2.5 g de semillas/m² en un área previamente sembrada con kikuyo en la Sabana de Bogotá, *T. pratense* coexiste con el kikuyo alcanzando una cobertura del área cercana al 80%, con una oferta floral superior a 20 inflorescencias por m² durante la mayor parte del año. En base a lo observado puede concluirse que

es posible la realización de podas regulares simultáneas, tanto del del kikuyo como de *T. pratense*, que estimulen los rebrotes y nuevas floraciones, las cuales constituyen un recurso de primera importancia para la especie nativa de abejorro *Bombus atratus*, sin excluir la posibilidad de utilizar los campos para la alimentación del ganado o la cosecha de los pastos para ensilaje como estrategia de mantenimiento y conservación de pastajes. Anotamos que durante el período de las observaciones no hubo presencia de ningún tipo de ganado en el campo de evaluación, por tanto, la alimentación a la que nos hemos referido está mas relacionada con el ensilaje del alimento cosechado. La cantidad de alimento que puede ser producido con el esquema de podas no fue evaluada en el presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias de la Universidad Militar Nueva Granada y de forma particular a los grupos de investigación en Biodiversidad y Ecología de Abejas Silvestres, Control Biológico y Fitopatología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aldana J., Cure J. R., Almanza M. T., Vecil D., Rodríguez D. 2007. Effect of *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) on tomato production (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in greenhouse in Bogotá plateau, Colombia. *Agronomía Colombiana* 25(1):62-72.
2. Almanza M. T. 2007. Breeding domestic bumblebees (*Bombus atratus*), and their use to in pollination Lulo crops (*Solanum quitoense* L.), a local fruit of the Colombian Andes region. Institute of Crop Science and Resources Protection, Faculty of Agriculture, University of Bonn. (1): 13- 35.
3. Barrow, D. A y Pickard R. S. 1984. Size-related Selection of Food Plants by Bumblebees. *Ecological Entomology* (9):369-373.
4. Blissuel-Belaygue C., Cowan A. A., Marshal A. H. y Wery J. 2002. Reproductive Development of White clover (*Trifolium repens* L.) is not impaired by moderate Water Deficit that Reduces Vegetative Growth: II Fertilization Efficiency and seed set. *Crop Science*. (42):414-422.
5. Bohart G. 1957. Pollination of Alfalfa and Red Clover. *Annual Review of Entomology* (2):355-380.
6. Borchert R., Meyer S., Felger R. y Porter-Bolland L. 2004. Environmental Control of Flowering Periodicity in Costa Rican and Mexican Tropical dry Forest. *Global Ecology and Biogeography*,(13):409-425.
7. Bradbear N. 2009. Non Wood forest Products 19. Bees and Their Role in Forest Livelihoods. A Guide to Services Provided by Bees and the Sustainable Harvesting Processing and Marketing of their Products. FAO. 13 -16.
8. Brown B. y Scott R. R. 1992. An Assessment of *Vicia faba* and *Trifolium pratense* as Forage Crops for *Bombus hortorum*. *New Zealand Entomologist* (15): 41 -46.
9. Carvell C. 2002. Habitat use and conservation of bumblebees (*Bombus* spp.) under different grassland management regimes. *Biological Conservation* (103):33-49.
10. Carvell C., Meek W. R., Pywell F., Goulson D. y Nowakowski M. 2007. Comparing the efficacy of agro-environment schemes to enhance bumble bee abundance and diversity on arable field margins. *Journal of Applied Ecology*. (44): 29-40.
11. Correa H. 2006. Perfil de Mercado de Semillas forrajeras – Colombia., “Monitoreo nutricional y metabólico en hatos lecheros”, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Producción Animal.(1). 89 – 95.
12. Cruz, O. 2000. Determinación de las diferencias en las dietas de tres especies de abejorros del género *Bombus* en sus ambientes naturales mediante el análisis palinológico. Trabajo de Grado. Universidad Militar Nueva Granada.23 – 47.
13. Cruz P., Almanza M. T. y Cure J. R. 2007. Logros y perspectivas de la cría de abejorros del género *Bombus* en Colombia. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. Universidad Militar Nueva Granada (3):49 – 60.
14. Damgaard C., Simonsen V. y Osborne J. 2007. Prediction of Pollen-Mediated Gene Flow Between Fields of Red Clover (*Trifolium pratense*). *Environ Model Assess* (4): 9112-9118.
15. Donovan B. J. 1993. History and utilization of imported bumblebees in New Zealand. *Honey bee science*. (4) 145 – 152.
16. Free J. B. 1965. The Ability of Bumblebee and Honeybees to Pollinate Red Clover. *Journal of Applied Ecology* (2):289-294.
17. Hayo H.W., Velthuis y Van Doorn A. 2004. The Breeding, Commercialization and Economic

- Value of Bumblebees. En: B. M. Freitas y J. O. Pereira. Solitary Bees, Conservation, Rearing and Management for Pollination. Federal university of Ceara. Brasil Ed Fortaleza CE. 16 - 55.
18. Hayo, H.W., Velthuis y Van Doorn, A. 2006. A Century Of Advances in Bumblebee Domestication and the Economic and Environmental Aspects of its Commercialization for Pollination. *Apidologie* (37):421– 451.
 19. Holm S. 1966. The Utilization And Management Of Bumble Bees For Red Clover And Alfalfa Seed Production. *Annual Review of Entomology* (11):155-182.
 20. Hopkins I. 1914. History of Bumblebees in New Zealand: its Introductions and Results. N. Z. Department of Agricultural Industries and Commercialization (46):1-29.
 21. Jeanneret F. y Rutishauser T. 2010. Seasonality as a Core Business in Phenology. En Keatly M. y Hudson I. (Eds.) 2010. *Phenological Research. Methods for Environmental and Climate Research Analysis*. Springer. 63 – 75.
 22. Koch E. 2010. *Phenological Research. Methods for Environmental and Climate Research Analysis*. Global Framework for Data Collection, Data Bases, Data Availability, future Networks, Online databases. Springer. London. 23 – 63.
 23. Kricher, J. C. y Davis, W. E. 1997 *A Neotropical Companion: An Introduction To The Animals, Plants, And Ecosystems Of The New World Tropics*. Princeton University Press. pp 20 - 65.
 24. McGregor, S. E. 1976. Red Clover. En.. *Insect Pollination of Cultivated Crop plants*. USDA. 96 - 183.
 25. Morellato P., Camargo M., D’êça Neves F, Luizze B., Mantovani A. y Hudson I. 2010. The Influence of Sampling Method, sample size, and Frequency of Observations on Plant Phenological Patterns and Interpretation on Tropical Forest Trees. En Keatly M. y Hudson I. (Eds.) 2010. *Phenological Research. Methods for Environmental and Climate Research Analysis*. Springer. London. 99 - 123.
 26. Opler P., Frankie G. y Baker H. 1976. Rainfall as a Factor in the Release, Timing, and Synchronization of Anthesis by Tropical Trees and Shrubs. *Journal of Biogeography*. (3): 231-236.
 27. Rebolledo R., Martínez H., Palma M., Aguilera P. y Klein K. 2004. Actividad de visita de *Bombus dahlbomi* (Guérin) y *Bombus ruderatus* (F.) (Hymenoptera:Apidae) sobre Trébol Rosado (*Trifolium pratense* L.) en la IX Región de La Araucanía, Chile. Universidad de La Frontera, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. *Agricultura Técnica*. 31 – 35.
 28. Shuel, R. W. 1951. Some Factors Affecting nectar Secretion In Red Clover. Department of Botany and Plant Pathology. The Ohio State University. Apiculture Department, Ontario Agricultural College, Guelph, Canada. Columbus 10, Ohio, 539.
 29. Sturz, A.V., Christie B.R., Matheson B.G. y Nowak J. 1997. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biology of Fertilization of Soils*. (25):13–19.