



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE
CONDICIONES AMBIENTALES
CONTROLADAS Y DIFERENTES MÉTODOS
DE ESTIMULACIÓN SOBRE LA FUNDACIÓN
Y EL DESARROLLO DE COLONIAS EN
CAUTIVERIO DE *BOMBUS EPHIPPIATUS*
(HYMENOPTERA, APIDAE)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

FRANCISCO GARCIA BULLE BUENO

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. REMY VANDAME**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Apellido paterno
Apellido materno
Nombre(s)
Teléfono
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Carrera
Número de cuenta

2. Datos del tutor

Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

3. Datos del sinodal 1

Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

4. Datos del sinodal 2

Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

3. Datos del sinodal 3

Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

4. Datos del sinodal 4

Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

1. Datos del alumno

García Bullé
Bueno
Francisco
62843165
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
307510709

2. Datos del tutor

Dr
Rémy
Vandame

3. Datos del sinodal 1

Dr
Ismael Alejandro
Hinojosa
Díaz

4. Datos del sinodal 2

Dr
Fernando
Alvarez
Padilla

3. Datos del sinodal 3

Dra
Laura Guadalupe
Espinosa
Montaño

4. Datos del sinodal 4

M. en C.
Alicia
Rojas
Ascencion

5. Datos del trabajo escrito

Título

Evaluación del efecto de condiciones ambientales controladas y diferentes métodos de estimulación sobre la fundación y el desarrollo de colonias en cautiverio de *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera, Apidae)

Subtítulo

Número de páginas

58

Año

2016

Agradecimientos

Hoy me siento orgulloso y contento de escribir este apartado. Creo que siempre es importante agradecer a las personas que me ayudaron, me inspiraron y me apoyaron para finalizar esta investigación. A continuación menciono a aquellas personas tan especiales.

Gracias,

A Marta Bueno Pedraza, por ser una excelente madre y haber estado a mi lado durante todo este proceso, por su apoyo, por escuchar mis presentaciones y siempre dar los mejores consejos.

A Mauricio García Bullé, por ser un excelente padre, por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi carrera por nunca haber dejado de creer en mí, por las comiditas de los sábados y las pláticas del futuro.

A Marta Pedraza Villarreal, por haberme recibido en su casa , por aquellas noches interminables de tarea y su apoyo y cuidado a lo largo de mi carrera.

A Bernardo García Bullé, por ser un excelente hermano y por su apoyo durante mis años de carrera.

A Rémy Vandame por haber sido un excelente tutor. Por abrirme la puerta al maravilloso mundo de las abejas, por el incondicional apoyo, por las noches de revisión de tesis y sus consejos de vida.

A Omar, por haberme enseñado el arte de los abejorros, por su apoyo y revisiones de tesis.

A Esteban Pineda por su trabajo previo e información sobre las colonias de *Bombus ephippiatus* en ECOSUR.

A Magdiel y Alejandro por el apoyo durante la captura de las 100 reinas. A Jesus por su apoyo durante el cuidado de las colonias de abejorros.

A Zacarías González Hernández por el apoyo brindado durante la tesis, sus valiosas opiniones e información sobre la cría de *Bombus ephippiatus*.

A José Ignacio Cuadriello Aguilar, por promover la cría de abejorros nativos en México y mejorar las técnicas de reproducción de *Bombus ephippiatus*.

A mis sinodales, Ismael Hinojosa, Fernando Alvares, Laura Espinosa y Alicia Rojas por haber revisado mi tesis. Por su enseñanza y su apoyo durante la carrera.

Al maravilloso equipo de las abejas: Renata , Iliana, Ana, Eric, Iliana, Isabel, Jorge, Maggie, Oscar, Philipe, Kenny. Por su apoyo en mis presentaciones, por el café abejero de cada viernes y por las charlas fuera del aula.

A la colmena de Costa Rica, Luis Ingrid, Eduardo y Beatriz por haberme dado mi primer experiencia con abejas, haber encontrado una gran pasión en mi vida.

A mi grupo de amigos de la carrera: Begoña, Natalia, Ana, Antonieta, Santiago, Kevin, Daniela, Eric, Natalia, Diana, Andres, José Luis, Cecilia, por ser un excelente equipo de trabajo, por las experiencias durante las prácticas de campo, por estar presentes en una importante época de mi vida.

Al los amigos de la prepa, Tomas Sanchez y Santiago Montiel, por formar parte vital del trípode, por los viajes y su apoyo a lo largo de mi carrera.

Gracias a la Facultad de Ciencias.

Gracias a ECOSUR.

Gracias a la UNAM.

“This is not just about bumblebees, but about creating a future environment for our children to enjoy, where there are still flowers, bees, butterflies and birds, and healthy crops to eat.”

— **Dave Goulson**,

Índice

1	Introducción	8
2	Antecedentes	9
2.1	Biología de los abejorros	9
2.1.2	<i>Bombus ephippiatus</i>	11
2.2	Cría y manejo de <i>Bombus</i> en cautiverio	12
2.2.1	Importancia de alimentación con polen	15
2.3	Uso en producción	15
2.4	Riesgos de introducción y conservación	16
2.5	Potencial de <i>Bombus ephippiatus</i> como polinizador comercial	18
3	Objetivo general	19
3.1	Objetivos particulares	19
4	Hipótesis	19
5	Método	20
6	Resultados	23
6.1	Síntesis comparativa de los experimentos realizados en ECOSUR	23
6.1.1	Diferencias en los porcentajes de las reinas de <i>B. ephippiatus</i> durante las diferentes etapas de desarrollo.	23
6.1.1	Diferencias en las gráficas de conteo de obreras y pupas.	25
6.2	Efectos de la humedad relativa y la temperatura en el desarrollo de las colonias de <i>B. ephippiatus</i> .	30
6.3	Similaridades y diferencias en los tiempos de fundación de nido de reinas de <i>B. ephippiatus</i> .	35
6.3.1	Relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas	37
6.4	Evaluación de diferentes métodos de estimulación para la fundación de nido en reinas de <i>B. ephippiatus</i>	39
7	Discusiones	39
7.1	Síntesis comparativa de los experimentos realizados en ECOSUR	39
7.1.1	Diferencias en los porcentajes de las reinas de <i>B. ephippiatus</i> durante las diferentes etapas de desarrollo.	39
7.1.2	Diferencias en las gráficas de conteo de obreras y pupas.	43
7.2	Efectos de la humedad relativa y la temperatura en el desarrollo de las colonias de <i>B. ephippiatus</i> .	47
7.3	Similaridades y diferencias en los tiempos de fundación de nido de reinas de <i>B. ephippiatus</i> .	50
7.3.1	Relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas	50
7.4	Evaluación de diferentes métodos de estimulación para la fundación de nido en reinas de <i>B. ephippiatus</i>	51
8	Consideraciones finales para mejorar la técnica de cría de <i>Bombus ephippiatus</i>	53
9	Literatura citada	54
10	Anexos	60

Evaluación del efecto de condiciones ambientales controladas y diferentes métodos de estimulación sobre la fundación y el desarrollo de colonias en cautiverio de *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera, Apidae).

1 Introducción

Estrategias de desarrollo y reproducción de *Bombus ephippiatus*

El comercio a nivel mundial de colonias de abejorros para la polinización de cultivos ha suscitado una preocupación especial por el gran potencial documentado de invasión de abejorros introducidos y su impacto en poblaciones de especies nativas. Estas introducciones representan principalmente dos tipos de riesgos: La competencia por los recursos naturales (incluyendo lugares de anidación) y la transmisión de enfermedades y patógenos. Un tercer tipo menos explorado es el riesgo de la interferencia reproductiva debido a la copulación entre especies introducidas y especies nativas (Kanbe et al. 2008).

Hay evidencia contundente que muchas especies de abejorros se encuentran en declive, en gran parte debido a la introducción de parásitos y enfermedades de abejorros no nativos por la industria de la polinización (Cankaya y Kaftanoglu , 2006; Plischuk y Lange, 2009; Williams y Osborne 2009; Cameron et al. 2011; Plischuk et. al.; Arbetman et al. 2012; Szabo et al. 2012; Morales et. al., 2013; Williams et. al., 2014; Manley et al. 2015). Esta pérdida de abejorros nativos que ocurre a nivel global pone de manifiesto la importancia de los abejorros nativos como una alternativa viable para la seguridad alimentaria y la conservación de la biodiversidad (Cameron et al. 2011). En México el amplio uso de *Bombus impatiens* para la polinización de tomate amenaza las poblaciones nativas (Velthuis, 2006). Una de las soluciones a este problema radica en mejorar las técnicas de reproducción y manejo de especies mexicanas. Una especie con un gran potencial para reproducirse en cautiverio es *B. ephippiatus* ya que además de ser una especie mexicana, tiene colonias grandes, duraderas y es criada a nivel local por bombicultores de México. Conocer más sobre aspectos relacionados a los primeros estadios de cría como la estimulación de fundación de nido y el desarrollo de la colonias reducirá los costos de producción y promoverá el uso sostenible de una especie mexicana con gran potencial como polinizador de cultivos, evitando así, los riesgos de utilizar abejorros no nativos.

A partir del contexto anterior se presenta una síntesis del conocimiento de abejorros en general. En esta síntesis abordaremos temas como la biología, las experiencias en la cría y el manejo de *Bombus* sp. en el mundo. Posteriormente nos enfocaremos en el uso de abejorros nativos como polinizadores de cultivos y el potencial de la especie mexicana *Bombus ephippiatus*. Finalmente trataremos los riesgos potenciales de utilizar abejorros no nativos en la polinización de cultivos.

2 Antecedentes

2. 1 Biología de los abejorros

Qué es un abejorro

La familia Apidae comprende tres grupos principales de abejas eusociales: las abejas melíferas (Tribu: Apini), las abejas sin aguijón (Meliponini) y los abejorros (Bombini). Los tres grupos tienen en común una organización social similar, la presencia de córbiculas (estructuras localizadas en la tibia de la pata posterior de algunas abejas) y el hábito de pecorear polen y néctar. Los abejorros se distinguen de los grupos Apini y Meliponini por tener ciclos de vida anuales y una organización social más simple, descritos en la literatura como organismos eusociales primitivos (Goulson, 2010).

De las 20, 000 especies de abejas en el mundo 250 pertenecen al género *Bombus*. Los abejorros son relativamente más grandes que la mayoría de las especies de abejas, tienen coloraciones aposemáticas y están cubiertos de un denso pelaje compuesto de sedas ramificadas. La combinación de tamaño y pelaje aislante les concede la capacidad de la endotermia, característica que ha promovido la adaptación y radiación del grupo en condiciones templadas. Consecuentemente los abejorros son frecuentes en zonas templadas, alpinas y árticas (Goulson,2010).

Ciclo de vida de abejorros

Los abejorros son insectos eusociales. Esto significa que individuos relacionados genéticamente cooperan para recolectar el alimento, cuidar a las crías y defender el nido. Las reinas, las obreras y los machos tienen diferentes funciones dentro de la colonia, tanto que incluso en la casta obrera hay diferenciación de trabajos (Michener y Laberge, 1954; Williams et. al., 2014).

Puede decirse que el ciclo de vida de los abejorros inicia en primavera, cuando las reinas ya fecundadas emergen de haber invernado durante los meses más fríos. Ellas buscan fundar una colonia y para esto deben encontrar un sitio adecuado para anidar. Las reinas vuelan cerca del suelo para aterrizar frecuentemente e investigar hoyos en el suelo. Ellas no excavan sus nidos sino que dependen de madrigueras abandonadas o estructuras huecas, ya que requieren de un suministro de musgo, plumas, pasto seco o cualquier otro material aislante sobre el cual construir su nido (Goulson, 2010). Muchas especies eligen sustratos específicos para el anidamiento (Williams et. al., 2014).

Una vez localizado el sitio adecuado, la reina construye una copa de cera para el suministro y almacenamiento de néctar. Es así que deposita su primer grupo de huevos en una masa de polen humedecida con néctar sobre un montículo de cera conocido como montículo de cría. Generalmente la reina pone de 8 a 16 huevos en su primer puesta. La bola de polen es posteriormente cubierta con una capa externa de cera (secretada de la parte abdominal ventral de la reina) mezclada con polen. La reina incuba a sus crías sentándose encima del montículo de cría, manteniendo un contacto directo con su superficie ventral. Las reinas generan altas cantidades de calor durante este periodo, manteniendo una temperatura interna de 37-39 C, calor que permite mantener la temperatura de sus crías en 30-32 C (Heinrich 1972).

Al nacer, las larvas se alimentarán de esta masa de polen. Esta etapa es altamente vulnerable para la colonia, ya que la escasez de alimento o los cambios drásticos en el clima pueden acabar con la misma (Williams et. al., 2014). La temperatura del nido es regulada; el calor puede ser generado por las obreras si es necesario y mantienen a la cría caliente al presionar su cuerpos contra sus celdas. También pueden ventilar el nido para enfriarlo, aleteando de manera continua en la entrada del mismo (Goulson, 2010).

Las larvas tienen cuatro estadios de desarrollo (instars) y después de aproximadamente 10-14 días de vida, las larvas tejen alrededor de si mismas una crisálida (pupa) de seda para pupar. Esta seda proviene de glándulas salivales modificadas conocidas como glándulas labiales y es secretada a través de la boca (Sutherland et. al., 2006). La etapa de pupa dura aproximadamente dos semanas, haciendo un total de 4-5 semanas de desarrollo completo, tiempo que dependerá de la temperatura y el suministro de comida (Alford 1975). Los abejorros adultos que emergen son hembras que generalmente no podrán huevos propios. Ellas se dedicarán a la recolección del alimento, el cuidado de las crías de la reina, la regulación de la temperatura dentro del nido y la defensa del mismo. Por otra parte la reina se quedará en la colonia para ovopositar e incubar a la progenie (Goulson, 2010; Williams et. al., 2014).

La abundancia en recursos florales y el éxito en el cuidado y desarrollo de la cría promueve el rápido crecimiento de la colonia. El crecimiento sigue hasta que inicia la producción machos y reinas vírgenes. Aún no bien entendido, se piensa que este cambio está relacionado a la edad de la reina y el tamaño de la colonia. Como en otros himenópteros, el sexo está determinado por un sistema conocido como haplodiploidía, donde los huevos fertilizados (que son diploides, con material genético de ambos padres) se desarrollan como hembras y los huevos no fertilizados (haploides, con material genético únicamente materno) se desarrollan como machos. De esta manera la reina produce machos depositando huevos no fertilizados con el esperma que ella almacena en su cuerpo desde su primer apareamiento. Aún no se entiende como es que algunos huevos fertilizados se desarrollan en reinas vírgenes y no en obreras estériles. Probablemente se relaciona a la dieta larvaria y a la exposición a feromonas de la reina (Williams et. al., 2014).

Los machos adultos no cooperan con la colonia (salvo raras excepciones), ellos dejan el nido poco después de emerger para alimentarse de los recursos florales y buscar alguna reina virgen con quien aparearse. Por otro lado, las reinas vírgenes adultas dejan los nidos para alimentarse durante el día y regresar en la noche. Se alimentan de grandes cantidades de polen y néctar, con la finalidad de almacenar reservas para sobrevivir a la hibernación. Normalmente las reinas se aparean sólo una vez y posteriormente buscan un lugar adecuado de hibernación donde entrarán en un estado de torpor (Michener 1974; Goulson 2010; Williams et. al., 2014). Finalmente la población de la colonia de origen decae, y la reina vieja muere antes del invierno, finalizando así el ciclo de la colonia (Michener 1974, Goulson 2003, Heinrich 2004).

El ciclo de vida antes descrito está basado en las especies de climas templados. Pese a que es abundante la información sobre este tipo de abejorros, poco se ha publicado acerca de la biología de las especies tropicales. Algunos estudios precedentes en los ecosistemas tropicales demuestran que las colonias de abejorros pertenecientes a estos ecosistemas son colonias grandes de hasta 500 obreras (De Oliveira et. al., 2015). Sin embargo el record a la colonia silvestre más grande de abejorros pertenece a un nido en México de la especie tropical *Bombus medius* el cual presentaba más de 2000 individuos, con una sola reina y alrededor de 800 obreras adultas (Michener y Laberge, 1954). El número de individuos por

colonia en algunas especies tropicales es significativamente mas grande que aquellas de especies de clima templado.

2.1.2 *Bombus ephippiatus*

El género *Bombus* se divide en dos grupos según la alimentación de sus larvas: “hacedores de bolsillos” y “almacenadores de polen”. Las especies del primer grupo construyen pequeños receptáculos junto a las larvas donde depositan néctar y polen como alimento para las mismas (Alford, 1975). Por otro lado, las especies del grupo almacenadores de polen no hacen receptáculos si no que las obreras regurgitan directamente el polen y el néctar sobre las larvas (Alford, 1975).

Actualmente se sabe que la cría de abejorros del grupo de “almacenadores de polen” en condiciones controladas de las especies pertenecientes a este grupo es mas simple y menos demandante que aquella del grupo conocido como “hacedores de bolsillo” (Plath 1923, Ptacek y Drobna 2006, Velthuis y van Doorne, 2006).

El abejorro mexicano *B. ephippiatus* pertenece al grupo de los almacenadores de polen (Chavarría-Villaseñor, G., 1996) y se caracteriza por ser una especie neotropical de montaña cuya distribución geográfica va desde México hasta Panamá (La bougle 1990; Chavarría-Villaseñor 1996). Su distribución altitudinal va de 800 a 3400 msnm (Chavarría-Villaseñor, G., 1996). Este hábito (especie neotropical) contrasta con los ciclos de vida de especies templadas por presentar colonias cuyo ciclo de vida no se limita a ser anual. Como consecuencia las colonias de *B. ephippiatus* pueden durar dos años, ser activas todo el año (Chavarría-Villaseñor, G., 1996) y alcanzar un tamaño poblacional de hasta 800 obreras (Lavery, T. M y R. C. Plowright, 1985). Otra diferencia es que las reinas nuevas no requieren hibernar a diferencia de las especies de climas templados. Las reinas de *B. ephippiatus* copulan e inician una colonia directamente (Lavery, T. M y R. C. Plowright, 1985).

Estatus taxonómico de *B. ephippiatus*

Complejo ephippiatus-wilmattae

La especie *B. ephippiatus* abarca un amplio rango geográfico que va desde México hasta Panamá, asimismo presenta una gran diversidad de patrones de coloración dependiendo su situación geográfica (La bougle 1990; Chavarría-Villaseñor 1996). Normalmente la especie presenta una coloración rayada alternando amarillo y negro con pelos rojizos en los terguitos 3 y 5 del abdomen (La bougle 1990; Chavarría-Villaseñor 1996).

En Chiapas *B. ephippiatus* presenta un genotipo caracterizado por una única banda amarilla de pelo a lo largo del pronotum. Este fenotipo se encuentra únicamente en el sur de México y el Norte de Guatemala y actualmente se clasifica como una especie diferente conocida como *B. wilmattae*. (Duennes et. al., 2012).

En el 2012 Michelle Duennes propone el complejo *ephippiatus-wilmattae* como 4 especies cercanas cuya gran diversidad genética y diferenciación por grandes barreras geográficas los convierte en 4 linajes diferentes. Uno en el norte de México separado por el istmo de Tehuantepec, otro en Costa Rica separado por la depresión de Nicaragua, y dos linajes divergentes simpátricos (traslapados) en el Sur de México y Centroamérica (Duennes et. al., 2012). Es importante aclarar que este complejo es propuesto a través de análisis moleculares con microsatélites (Duennes et. al., 2012).

Esto presenta implicaciones importantes para la conservación y el intercambio comercial de abejorros. Una de ellas es que la cría, el manejo y el uso de *B. ephippiatus* en Chiapas debe estar restringido a la distribución de su población, es decir, al Sur de México y Norte de Guatemala. Método que debería ser aplicado para las diferentes poblaciones de *B. ephippiatus* (Duennes et. al., 2012).

2. 2 Cría y manejo de *Bombus* en cautiverio

Desde hace unos 100 años el interés de investigadores por ampliar el conocimiento sobre el ciclo de vida de los abejorros impulsó la cría de colonias en cautiverio. La finalidad fue producir colonias en condiciones artificiales y utilizarlas en la industria de la polinización.

Por su servicio como polinizadores, las especies mejor conocidas y más estudiadas son *B. terrestris* y *B. impatiens*. Debido a su amplia distribución, sus colonias grandes y su adaptabilidad a condiciones artificiales (Velthuis y van Doorn, 2006) la cría de ambas especies se ha estudiado arduamente, y ya se sabe cuales son las condiciones adecuadas de temperatura, iluminación y humedad para inducir a las reinas a iniciar una colonia. Esto ha permitido desarrollar métodos para criarlos durante todo el año en total confinamiento. Actualmente la domesticación de *B. terrestris* y *B. impatiens* ha sido un hecho (Velthuis y van Doorne, 2006).

Las primeras observaciones sobre la cría de abejorros fueron hechas por Sladen (1912). Él publicó sus experiencias en un libro llamado « The Humble Bee », donde plantea las bases para los métodos de estimulación de ovoposición de reinas de abejorro en un laboratorio. Según Sladen (1912), para promover el inicio de un nido con reinas colectadas en el campo, lo mejor es colocar cada una dentro de una pequeña caja negra, imitando las condiciones de un sitio de anidación natural. La caja debe de ser provista con ciertos tipos de material para construir el nido, como un pedazo de cartón recubierto con cera o una tapa de plástico que sirva como base. Además debe de mantenerse una temperatura alta para estimular la primer puesta de huevos (Plowright y Jay 1966). Para iniciar la construcción del nido cada reina debe de ser provista de una pelota de polen y un bebedero con miel o algún otro sustituto (Sladen, 1912).

Complementariamente Sladen en 1912 observó el resultado de colocar dos reinas en una misma caja. Ambas presentaban un comportamiento agresivo, sin embargo una de las reinas construía un nido con mayor rapidez que si estaba sola (Plowright y Jay, 1966; Duchateau, 1985; Hannan et al., 1997; Bučánková y Ptáček, 2012). El método tiene buenos resultados, sin embargo el efecto de la agresividad entre las reinas conduce generalmente a la muerte de una de ellas, es decir, a la pérdida de reinas. Otros métodos son colocar una reina de *Bombus* sp. con obreras conspecíficas u obreras de *Apis mellifera* recién salidas de la crisálida (Sladen 1912; Plath 1923; Velthuis, 2006; Gurel F. y Gosterit, 2009; Bučánková, 2012).

Duchateau (1991) y Kwon (2006) demostraron que cuando las reinas nuevas de *Bombus terrestris* eran puestas con obreras inmaduras de otras colonias, ellas eran estimuladas para ovopositar más rápidamente que cuando eran mantenidas solas. Este tipo de estimulación de fundación de nido se ha estudiado ampliamente (Sladen 1912; Plath, 1923; Duchateau, 1991; Griffin et. al, 1991, Van den Eijnde et al., 1991). En este caso, la reina adopta inmediatamente a las obreras, pese a no tener ninguna relación de parentesco genético, a veces incluso de diferentes especies (Plath, 1923). La comunicación entre obreras y reinas promueve la ovoposición de la reina nueva, Las obreras cooperan con la reina como si se tratará de la reina de su colonia, es decir que ayudan en la incubación de los huevos una vez que estos son puestos. (Plath, 1923).

La disposición de los abejorros de aceptar crías o individuos interespecíficos tiene grandes ventajas. Por lo tanto nos ha permitido criar especies de abejorros aún no domesticadas cuya cría o individuos conspecíficos no es fácilmente accesible. Para esta cooperación conspecífica se utilizan con mayor frecuencia las especies *B. terrestris* y *Apis mellifera* debido a su fácil manejo y accesibilidad (Bučánková y Ptáček, 2012). Los tiempos para crear la primer, segunda y tercera camada de abejorros están relacionados al número de obreras que ayudan a la reina. Kwon et. al.(2006) también observó que un mayor número de obreras al inicio de la colonia promueve el desarrollo temprano óptimo de la misma. Esto se debía a dos opciones: La reina ponía una mayor cantidad de huevos cuando tenía más ayudantes o todos los huevos puestos sobrevivían y terminaban su desarrollo gracias a la alimentación de un mayor número de obreras (Kwon et. al., 2006).

Durante los años subsecuentes, diversos investigadores obtuvieron resultados similares con abejorros europeos o norteamericanos utilizando como base las técnicas propuestas por Sladen (1912) pero innovando nuevos diseños de cajas de inicio, materiales de aislamiento y nuevas formas de estimular a la reina para la fundación de la colonia (Plath 1923; Horber, 1961 revisado por Holm 1966). Durante el siglo XX, varios estudios contribuyeron a mejorar la técnica de cría, desarrollando métodos para controlar cada uno de los pasos del ciclo de vida de los abejorros y así alcanzar un proceso de domesticación completo (Salvarrey, 2012).

Horber (1961) y Röseler (1985) hablaron de lo importante que es mantener el control de la temperatura y la humedad relativa durante la cría de *Bombus* sp. Ambas condiciones deben permanecer constantes para promover el óptimo desarrollo de las colonias en cautiverio. Sin embargo, las medidas óptimas de cría de abejorros pueden llegar a ser muy variables dependiendo la especie de estudio (Tabla 1).

Horber (1961) demostró que las reinas de *Bombus hypnorum*, después de aparearse, podían ser inducidas a iniciar una colonia al llevarlas a un cuarto de cría con iluminación artificial y elevando la temperatura del cuarto entre 30 y 35 C.

Röseler (1985) confirmó que la humedad relativa no debe estar a menos de 50% para el desarrollo óptimo de la colonia de *B. terrestris*. Esto fue confirmado por Yoon et. al. (2002) trabajando con la especie *Bombus ignitus*, utilizando diferentes rangos de temperatura y humedad encontró que los mejores resultados eran bajo 27 C y 65% Humedad relativa, posteriormente Jie et. al. (2005) encontró que para *B. terrestris* las condiciones óptimas de crianza resultaron ser 30C de temperatura y 60% de humedad relativa. La especie tropical *B. ephippiatus* fue estudiada por Montemayor y Madrid Cuevas

(2003) y encontraron que la temperatura óptima para criarlo era $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la humedad relativa de $55 \pm 5\%$ (Tabla 1).

Según Duchateau (1991), Přidal y Hofbauer (1998), Jie et. al. (2005) y Bučánková y Ptáček(2012) el éxito en el establecimiento de una colonia es promovido al insertar pupas conspecíficas con las reinas nuevas en las cajas de inicio. Hay una gran cantidad de características que pueden estimular a las reinas para fundar un nuevo nido usando pupas externas, estas incluyen el olor, las feromonas liberadas (Heinrich, 1974; Gamboa et al., 1987) y la temperatura ligeramente más elevada de la pupa, $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ más arriba que la temperatura ambiente. (Barrow y Pickard, 1985; Cameron, 1985). (Velthius, 2006).

Autor y año del estudio	Especie	Temperatura óptima	Humedad óptima
Horber (1961)	<i>Bombus hypnorum</i>	30-35 °C	
Laverty y Plowright (1985).	<i>B. ephippiatus</i>	25 °C	
Röseler (1985)	<i>B. terrestris</i>		>50 %
Yoon et. al. (2002)	<i>Bombus ignitus</i>	27 C	65 %
Kwon y Saeed (2003)	<i>B. terrestris</i>	$28 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	$60 \pm 10\%$
Montemayor y Madrid Cuevas (2003)	<i>B. ephippiatus</i>	$30\text{ }^{\circ} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$	$55 \pm 5\%$
Jie et. al. (2005)	<i>B. terrestris</i>	30 °C	60 %

Tabla 1. (Elaboración propia). Indicando los rangos óptimos de temperatura y humedad estudiados para diferentes especies de *Bombus* sp. Los cuadros en anaranjado señalan aquellos estudiados realizados con la especie *B. ephippiatus*. Los cuadros en azul señalan aquellos estudios realizados con otras especies de *Bombus*.

Gretenkord, Drescher (1997), Kwon y Saeed (2003) encontraron que pupas jóvenes de *B. terrestris* (menos de dos días de edad) colocadas con reinas nuevas estimulaban fuertemente la fundación de una nueva colonia. Esto se debe probablemente a la comunicación social, las reinas incuban y aíslan a las pupas dentro de capullos para incubarlos como a sus propias crías (Kwon et. al., 2006). Las pupas eran colocadas horizontalmente para permitir que la reina construyera mas copas de huevos encima de éstos, acelerando así el desarrollo de la colonia. Los estudios más recientes muestran que la utilización de pupas congeladas con obreras inmaduras de otras colonias puede ser una opción viable debido a que permiten material accesible durante todo el año, permitiendo así, la cría sostenible. (Kwon et. al., 2006).

Una vez que la reina es estimulada e inicia la ovoposición, la cantidad de alimento suministrado debe aumentar gradualmente hasta la emergencia de la primer camada de obreras. Posteriormente la colonia debe ser transferida a una caja de mayor tamaño para permitir el desarrollo adecuado del nido (Salvarrey et. al., 2013).

Finalmente el nido puede mantenerse cerrado a temperatura controlada y ser abastecido de alimento regularmente, o puede ser trasladado al campo y permitir que las obreras pecoreen libremente para abastecer a la colonia (Salvarrey et. al., 2013).

2. 2. 1 Importancia de alimentación con polen

El polen colectado de colonias de *Apis mellifera* es normalmente utilizado para la cría de colonias de abejorros en cautiverio. Plowright and Jay (1966) and Röseler (1977) confirmaron que para obtener mejores resultados, el polen debía congelarse fresco, sin secarse anteriormente. Y que la pelota de polen puesta en los nidos de abejorros debía reemplazarse diario o cada dos días.

La cantidad y el tipo de polen pueden ser factores determinante para la fundación y el éxito de un nuevo nido. Como observado por Frison (1927) cuyo experimento promovió la fundación de nido al confinar reinas de *Bombus ternarius* en una caja con abundante polen. Al tener alimento abundante, la probabilidad de inicio de nido fue mayor ya que la reina tenía suficiente energía para incubarla, cuidar y alimentar a su camada. Es por eso que polen fresco diario puede mejorar las condiciones de un nido así como estimular a una reina a iniciar la ovoposición (Frison, 1927).

Cabe mencionar que las condiciones de cría estudiadas hasta ahora se han basado en un número escaso de especies de *Bombus*, principalmente *B. terrestris* (Röseler , 1985; Gretenkord y Drescher, 1997; Kwon y Saeed, 2003; Jie et. al., 2005; Kwon et. al., 2006, Inoue y Washitani, 2008; Bučánková y Ptáček, 2012) . Es importante tomar en cuenta que las condiciones óptimas de cría y desarrollo varían dependiendo la especie de *Bombus* en cautiverio (Plowright y Jay 1966).

2.3 Uso en producción

Pese a que el potencial de diferentes especies de abejorros ha sido reconocido por muchos investigadores (Röseler, 1985; Velthuis, 2006; Goulson, 2010; Williams et. al., 2014), la diversidad de especies útiles para los sistemas agrícolas no ha sido muy explorada (Williams et. al., 2014). Por ejemplo, en cuanto a la especies mexicanas, muy poco se sabe sobre su cría y manejo en cautiverio.

El valor de los abejorros como polinizadores de plantas silvestres y cultivadas es altamente apreciado (Velthuis, 2006; Williams et. al., 2014). Comparados con *Apis mellifera*, los abejorros trabajan más eficientemente en días nublados y en áreas reducidas como los invernaderos, además tienden a dedicarse principalmente a los cultivos de invernadero (Yoon et. al., 2002), su lengua es mas larga que aquella de muchas otras especies de abejas y realizan la polinización por zumbido, por lo que son mejores al polinizar flores con corolas grandes (Solanaceae) (Velthuis, 2006; Goulson, 2006).

A finales del siglo XX se inició en Holanda la comercialización de colonias de abejorros para la polinización de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en invernadero, principal cultivo en el que son utilizados hasta la actualidad (Velthuis y Van Doorne, 2006). Cada año la demanda por abejorros es mayor (Yoon et. al., 2002) y actualmente más de un millón de colonias producidas comercialmente son

ventas alrededor del mundo. La mayoría de estas colonias son usadas en invernaderos, donde su servicio como polinizadores es valorado en más de mil millones de dólares anuales (Williams et. al., 2014). Los agricultores se benefician del servicio de polinización que brindan los abejorros por su bajo costo de producción, alto rendimiento y mejora en la calidad de la fruta (Velthius y Van Doorne, 2006).

Muchas empresas productoras de colonias surgieron para abastecer la fuerte demanda de la comercialización de abejorros. Sin embargo, sólo tres grandes compañías (Biobest, Koppert y Bunting Brinkman Bees) son las encargadas principalmente de abastecer el mercado de demanda de abejorros a nivel mundial. A pesar de que los aspectos generales de cría son de dominio público, los detalles de su cría no son totalmente conocidos. Cada una de las empresas que comercializan con abejorros ha perfeccionado y mecanizado la técnica de cría y manejo, información que actualmente es confidencial (Velthius y Van Doorne, 2006).

En los últimos años, centros de investigación en diferentes partes del mundo han buscado perfeccionar las técnicas de cría de abejorros para hacerlas más eficientes. En su mayoría, los investigadores trabajan con la especie *B. terrestris* y se han enfocado en desarrollar métodos para estimular a la reina a que inicie un nido (Gretenkord y Drescher, 1997; Kwon y Saeed, 2003; Kwon et. al. 2006) y en determinar las condiciones óptimas de cría en las diferentes etapas del ciclo de desarrollo del nido (Jie et al., 2005; Velthius, 2006; Yoon et al., 2002).

2. 4 Riesgos de introducción y conservación

Hay evidencia contundente que muchas especies de abejorros se encuentran en declive, en gran parte debido a la introducción de abejorros no nativos en la industria de la polinización. (Cankaya y Kaftanoglu, 2006; Plischuk y Lange, 2009; Williams y Osborne 2009; Cameron et al. 2011; Plischuk et. al.; Arbetman et al. 2012; Szabo et al. 2012; Morales et. al., 2013; Williams et. al., 2014; Manley et al. 2015). Estas introducciones representan principalmente dos tipos de riesgos: La competencia directa por los recursos naturales (incluyendo lugares de anidación) y la transmisión de enfermedades y patógenos. Un tercer tipo menos explorado es el riesgo de la interferencia reproductiva debido a la copulación entre especies introducidas y especies nativas (Ono y Wada 1996; Kanbe et al. 2008; Morales et. al., 2013; Dicks et. al., 2010). Dado que los abejorros invasivos pueden desplazar rápidamente a sus congéneres nativos, la introducción a futuro de especies no nativas debe ser descartada (Morales et. al., 2013).

Entre los abejorros del grupo de los “almacenadores de polen” las dos especies más vendidas alrededor del mundo son: *B. impatiens* en América y *B. terrestris* en Europa y Asia. Ambas especies son utilizadas fuera de sus rangos geográficos de distribución por su servicio como polinizadores de cultivos. Como consecuencia, algunas poblaciones de especies de abejorros nativos han disminuido en cantidades alarmantes (Velthius, 2006; Dicks et. al., 2010).

Las especies de abejorros criadas para la polinización comercial presentan un mayor riesgo de acarrear altos niveles de infecciones por parásitos que colonias de abejorros salvajes. Además, el movimiento comercial de estas colonias interrumpe los patrones espaciales de adaptación local entre hospederos y parásitos (Rutrecht y Brown, 2008; Meeus et al. 2011). Esto último crea un riesgo para las poblaciones

de abejorros nativas, ya que ellas no se encuentran adaptadas a los patógenos y enfermedades de las especies introducidas (Durrer y Schmid-Hempel, 1994; Schmid-Hempel, 2001).

Una de las vías de transferencia de patógenos es la utilización del mismo recurso floral. Cuando un abejorro infectado se posa sobre una flor, sus patógenos pueden descender a la misma para esperar a un nuevo huésped. Seguido a la importación, las colonias producidas comercialmente interactúan con abejorros nativos y otros polinizadores a través del uso de las mismas flores (Whittington et al., 2004), creando un riesgo importante a la comunidad total de polinizadores. (Durrer y Schmid-Hempel 1994).

Desde el inicio de la cría de abejorros en cautiverio en 1987, especies de abejorros no nativos han sido introducidos en más de 11 países de América, Asia y Australia. Colonias del abejorro europeo *B. terrestris* que normalmente eran usadas por su servicio de polinización se han escapado y actualmente la especie está naturalizada en Tasmania y Japón. En Japón *B. terrestris* ha tenido un impacto negativo en poblaciones de especies de abejorros nativos, aparentemente debido a la competencia por lugares de anidamiento (Inoue y Washitani, 2008). Por lo menos cuatro especies no nativas de abejorros se han establecido en Argentina (Morales et al., 2013; Plischuk y Lange 2009), dentro de éstas, se ha encontrado que *B. terrestris* acarrea con dos tipos de parásitos internos diferentes, *Crithidia bombi* y *Apicystis bombi* (Plischuk y Lange 2009; Arbetman et al. 2013).

Un estudio en Canadá demostró que colonias de abejorros nativos que anidaban cerca de invernaderos se infectaron con el parásito *Crithidia bombi*, pero que colonias de la misma especie de abejorros que anidaban en otras partes dentro de la misma región se encontraban libres del parásito (Colla et al., 2006). La baja observada en cinco especies de abejorros norteamericanos ha sido parcialmente causada por el microsporidio *Nosema bombi* y otros patógenos introducidos con las colonias de abejorros comerciales (Otterstatter y Thompson, 2008; Stout y Morales, 2009).

La infección con el microsporidio *Nosema bombi* puede tener diferentes efectos, desde la reducción en el éxito de fundación de una colonia, desarrollo temprano y reproducción de la misma (Brown et al. 2003), hasta el aumento en los índices de mortandad (Brown et al. 2000). Un protozoario diferente llamado *Apicystis bombi*, puede ser altamente virulento también, y es sospechoso de ser el factor principal del declive en las poblaciones nativas de abejorros en Sudamérica (Arbetman et al. 2012).

Para poder abastecer a los productores de tomate en el oeste de Norte América con colonias de abejorros, las autoridades permitieron el uso de *B. impatiens* con algunas restricciones como el uso de la especie únicamente permitido dentro de invernaderos y el uso obligatorio del llamado « queen excluder » que impide a las jóvenes reinas escapar. (Velthuis, 2006).

En México, uno de los países de mayor producción de tomates de invernadero, los abejorros son usados ampliamente en la polinización comercial. Hasta hace poco, la especie utilizada para polinizar estos cultivos era *B. impatiens*, especie exótica de los Estados Unidos (Flanders et al., 2003). La práctica actual es reproducir a *B. impatiens* en instalaciones de México, donde las ventas anuales de esta especie exceden las 55 000 colonias por año en América (Velthuis, 2006).

Como demostrado por Cameron et al. en 2011 y 2016 la introducción de abejorros europeos en Estados Unidos trajo consigo la introducción del hongo *Nosema bombi*, el cual infectó de manera

alarmante de 1980 a 1990 a las poblaciones de abejorros nativos. La fuerte prevalencia del hongo y la diversidad genética reducida son predictores de patrones alarmantes en el decline de poblaciones de abejorros en Norteamérica (Cameron et. al., 2011). Estudios sobre la distribución geográfica de *N. bombi* y *Crithidia* han mostrado la presencia de nuevas especies en México (Gallot-Lavallée et. al., 2016). Esta diversificación de parásitos podría suscitar un problema serio para las poblaciones de abejorros nativos en México.

La mejor estrategia para evitar la introducción de abejorros no nativos es la utilización de especies nativas (Evans et al. 2007; Ings et al. 2006; Mader et. al. 2011). La principal dificultad que esto plantea es la adecuación de una técnica óptima para la cría de las especies nativas y el hecho de que no todas las especies pueden ser criadas con la misma facilidad (Plath 1923; Plowright y Jay 1966.)

En un año de cría de abejorros, la fundación rápida de una colonia por la reina y la tasa de éxito de desarrollo temprano (producción de obreras) son los mayores criterios para reducir los costos de producción y obtener colonias fuertes y productivas (Gurel, 2009). Sin embargo, uno de los fracasos más grandes al criar una colonia de abejorros bajo condiciones de laboratorio se debe a la no ovoposición de las reinas nuevas, al retraso prolongado de la misma y al desarrollo mediocre de la primera camada (Kwon et. al., 2006). El periodo de iniciación de una colonia representa un elemento clave en la cría de abejorros. Disminuir el tiempo de iniciación podría disminuir los costos de producción y optimizar las técnicas de cría y manejo de abejorros.

2. 5 Potencial de *Bombus ephippiatus* como polinizador comercial

La especie mexicana *B. ephippiatus* representa una especie con un gran potencial para reproducirse en cautiverio por pertenecer al grupo de los almacenadores de polen (biología reproductiva que facilita su manejo en cautiverio) tener un carácter dócil y tranquilo que permite su fácil manipulación (Llorente Torres, 2005) y ser una especie con una distribución amplia y relativamente abundante en México (zonas montañosas superiores a 2000 m de altitud en las Sierras Madre Oriental y Occidental y a lo largo del Eje Volcánico Transversal), (Labougle 1990). Es una especie nativa, conocida y criada a nivel local por bombicultores de México con evidencias experimentales de su eficiencia polinizadora (Vergara y Fonseca-Buendía, 2012).

Conocer más sobre aspectos relacionados a los primeros estadios de cría como la estimulación de fundación de nido y desarrollo temprano de la colonia podrá reducir los costos de producción y promover el uso sostenible de una especie mexicana con gran potencial como polinizador de cultivos, evitando así, los riesgos de utilizar abejorros no nativos.

3 Objetivo general

Evaluar el efecto de condiciones ambientales controladas y diferentes métodos de estimulación sobre la fundación y el desarrollo de colonias en cautiverio del abejorro *B. ephippiatus*.

3.1 Objetivos particulares

1 Realizar una síntesis comparativa que describa dos experimentos relacionados a la cría del abejorro *B. ephippiatus* hechos anteriormente en Ecosur con el presente estudio.

2 Identificar si la humedad relativa y temperatura son factores determinantes en la cría de *B. ephippiatus*.

3 Identificar similitudes y diferencias en el tiempo que tardan las reinas silvestres de *B. ephippiatus* en fundar un nido.

4 Evaluar diferentes métodos de estimulación en reinas silvestres de *B. ephippiatus* para que inicien la fundación de una colonia.

4 Hipótesis

Los cambios de temperatura y humedad relativa afectan el desarrollo de colonias de *B. ephippiatus*.

Las Reinas de *B. ephippiatus* son estimuladas a ovopositar por tratamientos como : Una pupa conspecífica, dos obreras conspecíficas y una dosis diaria de polen.

5 Método

Síntesis comparativa de estudios precedentes

Se realizó una síntesis de dos experimentos de cría precedentes realizados con *B. ephippiatus* en ECOSUR durante los años del 2014 y 2015 (experimento 1 y 2). Con el fin de corroborar los resultados de los experimentos anteriores se realizó una tercera repetición (experimento 3) de cría de *B. ephippiatus* utilizando la misma técnica que los experimentos anteriores.

Es importante resaltar que los tres experimentos se llevaron bajo condiciones similares de manejo, humedad y temperatura (28C-30 C y 60-65% HR) . El primero se realizó con 69 reinas entre los meses de julio y diciembre del 2014 bajo la supervisión de Esteban Pineda Diez y Yuriana Martínez. El segundo estudio se realizó con 8 reinas entre los meses de mayo a diciembre del 2015 bajo la supervisión de Omar Argüello y el estudiante Francisco García Bullé Bueno. Finalmente el tercer estudio es el presente trabajo el cual se realizó con 100 reinas durante los meses de septiembre del 2015 a febrero del 2016.

Los tres experimentos se compararon usando datos como: Los porcentajes de reinas que sobrevivían durante las diferentes etapas de desarrollo del nido, el número de obreras y el número de pupas (contados cada semana).

A continuación se describe la metodología utilizada para los tres experimentos:



Figura 1. Mapa que muestra los diferentes sitios de colecta de las reinas silvestres de *B. ephippiatus* para los 3 experimentos realizados en ECOSUR. 1. San Cristóbal de las Casas (16.732314, -92.661861), 2. el antiguo aeropuerto de San Cristóbal de las Casas (16.699735, -92.542705) y 3. en Oxchuc (16.79063, -92.34525)

Colecta de reinas de *B. ephippiatus*

Se colectaron reinas silvestres fecundadas visitando flores compuestas (Asteraceae). En los experimentos 1 y 2 las reinas fueron capturadas en los alrededores de de San Cristóbal de Las Casas (16.732314, -92.661861). En el experimento 3 las reinas se capturaron en tres diferentes sitios: San Cristóbal de Las Casas (16.732314, -92.661861), el antiguo aeropuerto de San Cristóbal de Las Casas (16.699735, -92.542705) y en Oxchuc (16.79063, -92.34525). Las colectas se hicieron durante la última semana de octubre en 2015. Las reinas colectadas fueron confinadas en pequeños frascos de plástico con tapas agujeradas para su respiración. La duración entre la colecta en el campo a su cambio a las cajas de inicio fue de un día (Yoon et. al., 2002). Las 100 reinas fueron capturadas en el transcurso de una semana. Desde el inicio, los abejorros fueron provistos cada dos días de una solución de fructosa compuesta por jarabe natural y agua (1:1) y una masa de polen hecha con jarabe natural y polen fresco colectado con trampas de polen en un apiario (1:1).

Cajas de inicio:

Cada una de las cajas de inicio (Figura 2) está hecha de tres paredes laterales y una tapa de madera de 1cm de grosor. La pared frontal es una placa de vidrio deslizable de 2mm de grosor (12.6 cm X 6.3 cm) y la base esta hecha de tela de alambre situada a 2cm del suelo para ventilar y dar higiene al nido. Cada tapa tiene dos agujeros: Uno para colocar el bebedero (2cm de diámetro) y el otro para la entrada de



Figura 2. Se muestra una caja de inicio usadas para mantener a las reinas de *B. ephippiatus* durante los 3 experimentos realizados en ECOSUR.

material externo y manejo adecuado de la reina (2.8cm de diámetro). Sobre la base colocamos una tapa de plástico para darle una base sólida a cada reina.

Régimen de temperatura y calor

Cada caja se colocó en un laboratorio con condiciones de temperatura y humedad relativa controladas (28C-30C y 60%) y bajo luz roja monitoreamos las colonias cada dos días con la finalidad de registrar la creación de nuevas celdas, huevecillos, pupas y obreras y al mismo tiempo perturbar lo menos posible (Horber, 1962; Yoon et. al., 2002).

Definición de términos y toma de datos

Para facilitar el análisis comparativo de desarrollo de las colonias de *B. ephippiatus*, su desarrollo se dividió en 5 etapas diferentes: 1) Captura de las reinas; 2) Iniciación de la colonia (imagen 1); 3) Nacimiento de la primer obrera. ; 4) Nacimiento de 15 obreras (imagen 3f) ; 5) Producción de reinas vírgenes y zánganos. La iniciación de la colonia es la fecha de ovoposición de los primeros huevos, el nacimiento de la primer obrera designa la duración entre la primer ovoposición y la primer adulta que emerge (Yoon et. al., 2002). Cuando las colonias alcanzaron la etapa 4 éstas fueron cambiadas a las cajas de desarrollo para que siguieran creciendo. Las reinas que no ovopositan en los primeros 30 días son excluidas del experimento (Kwon et. al., 2006).

Cada dos días las cajas de inicio se inspeccionaron registrando la situación de las reinas y las medidas de humedad relativa y temperatura en el cuarto de cría. Cada semana fue contado el número de pupas y obreras por cada colonia en desarrollo. Posteriormente se realizaron gráficas con los datos de los conteos semanales y se compararon con las gráficas de promedios semanales de humedad relativa y temperatura.

Adicionalmente, en el tercer experimento de cría se buscó evaluar diferentes métodos de estimulación de fundación de nido:

Métodos de estimulación de fundación de nido

Las 100 reinas fueron aleatoriamente ubicadas en 4 grupos (25 por grupo). cada grupo recibió un tratamiento diferente de estimulación de formación de nido: 1) Por cada reina se colocaron dos obreras conspecíficas provenientes de una colonia externa de *B. ephippiatus*; 2) Por cada reina se colocó una pupa conspecífica proveniente de una colonia externa de *B. ephippiatus*; 3) Se suministró una dosis de polen diaria; 4) Un tratamiento control (sin estimulación).

Los tratamientos se iniciaron el día 29 de octubre del 2015.

6 Resultados

A continuación se muestran los resultados para cada objetivo descrito anteriormente:

6.1 Comparación entre los tres experimentos realizados en ECOSUR.

6.1.1 Diferencias en los porcentajes de las reinas de *B. ephippiatus* durante las diferentes etapas de desarrollo. 6.1.2 Diferencias en las gráficas de conteo de obreras y pupas.

6.2 Efectos de la humedad relativa y la temperatura en el desarrollo de las colonias de *B. ephippiatus*.

6.3 Similaridades y diferencias en los tiempos de fundación de nido de reinas de *B. ephippiatus*.

6.3.1 Relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas.

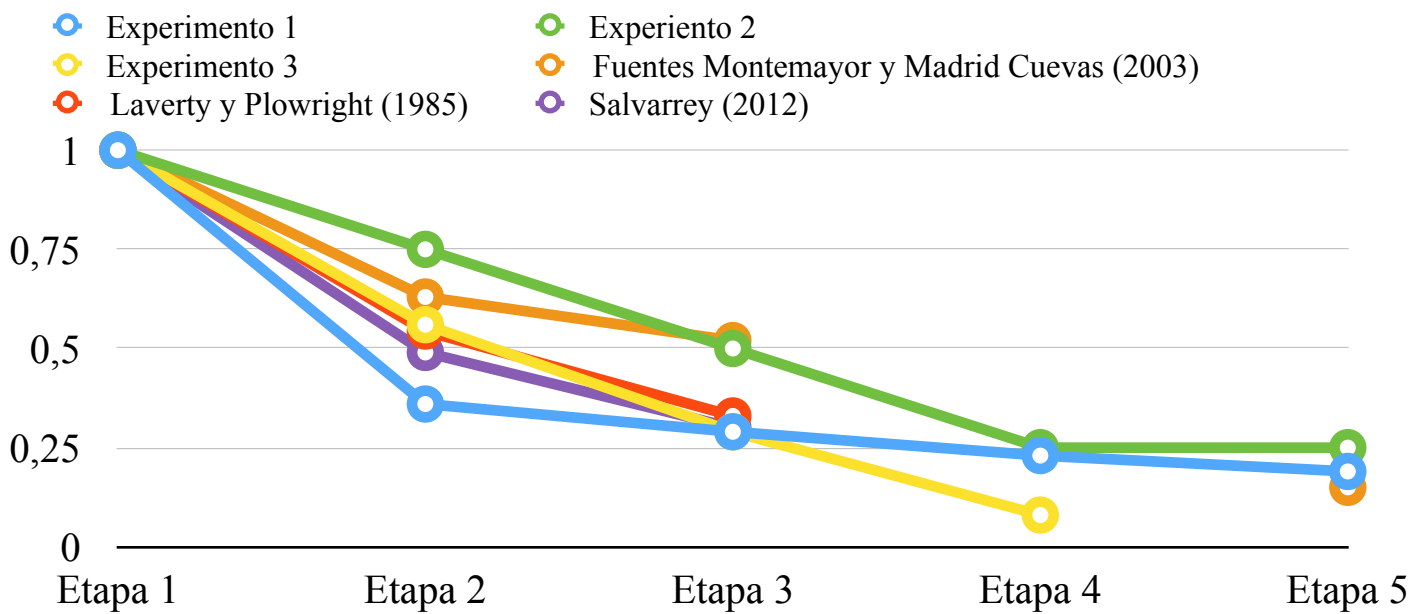
6.4 Evaluación de diferentes métodos de estimulación para la fundación de nido en reinas de *B. ephippiatus*.

6.1 Comparación entre los tres experimentos realizados en ECOSUR.

6.1.1 Porcentajes de las reinas de *B. ephippiatus* durante las diferentes etapas de desarrollo

A continuación se muestran los porcentajes de reinas que alcanzaron las diferentes etapas de desarrollo de los tres experimentos realizados en ECOSUR. Además se comparan con tres experimentos anteriores realizados con *B. ephippiatus* (Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas, 2003; Laverty y Plowright, 1985) y *Bombus atratus* (Salvarrey (2012).

Posteriormente se comparan las gráficas de conteos de obreras y pupas tomadas cada semana para cada uno de los tres experimentos. En las gráficas únicamente se muestran los nidos de tres o más semanas de vida. Esto con la finalidad de que se observaran mejor los nidos en las gráficas. Las colonias del experimento 3 se estudiaron por 8 meses (tiempo de la estancia estipulado en Chiapas) y por eso no alcanzan un punto máximo.

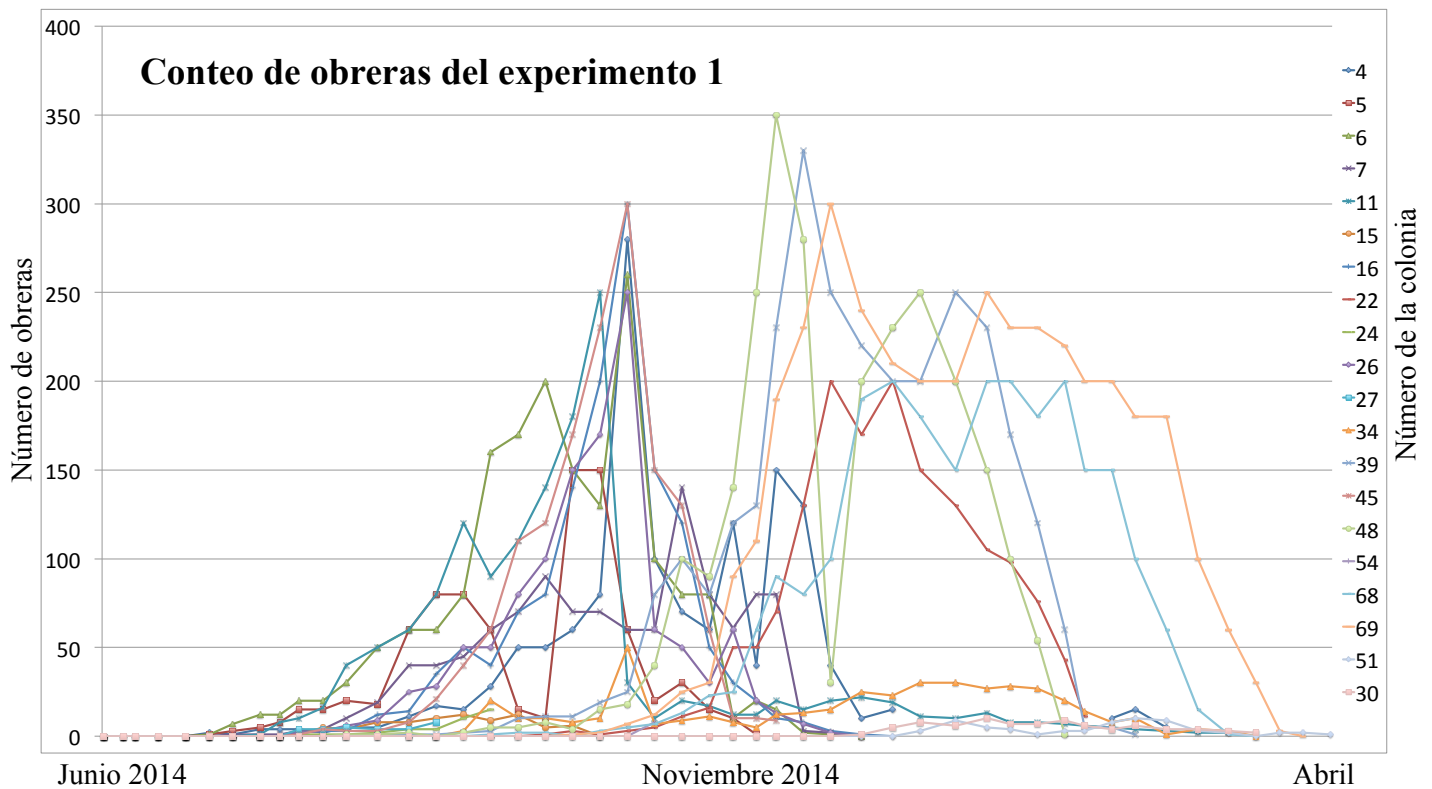


Gráfica 1. Gráfica que muestra los porcentajes de reinas que pasaron a las siguientes etapas a lo largo del proceso de cría. Cada línea representa un experimento diferente realizado con *B. ephippiatus* (Experiencia 1,2 y 3, Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003),Laverty y Plowright (1985)) y *Bombus atratus* (Salvarrey (2012)).

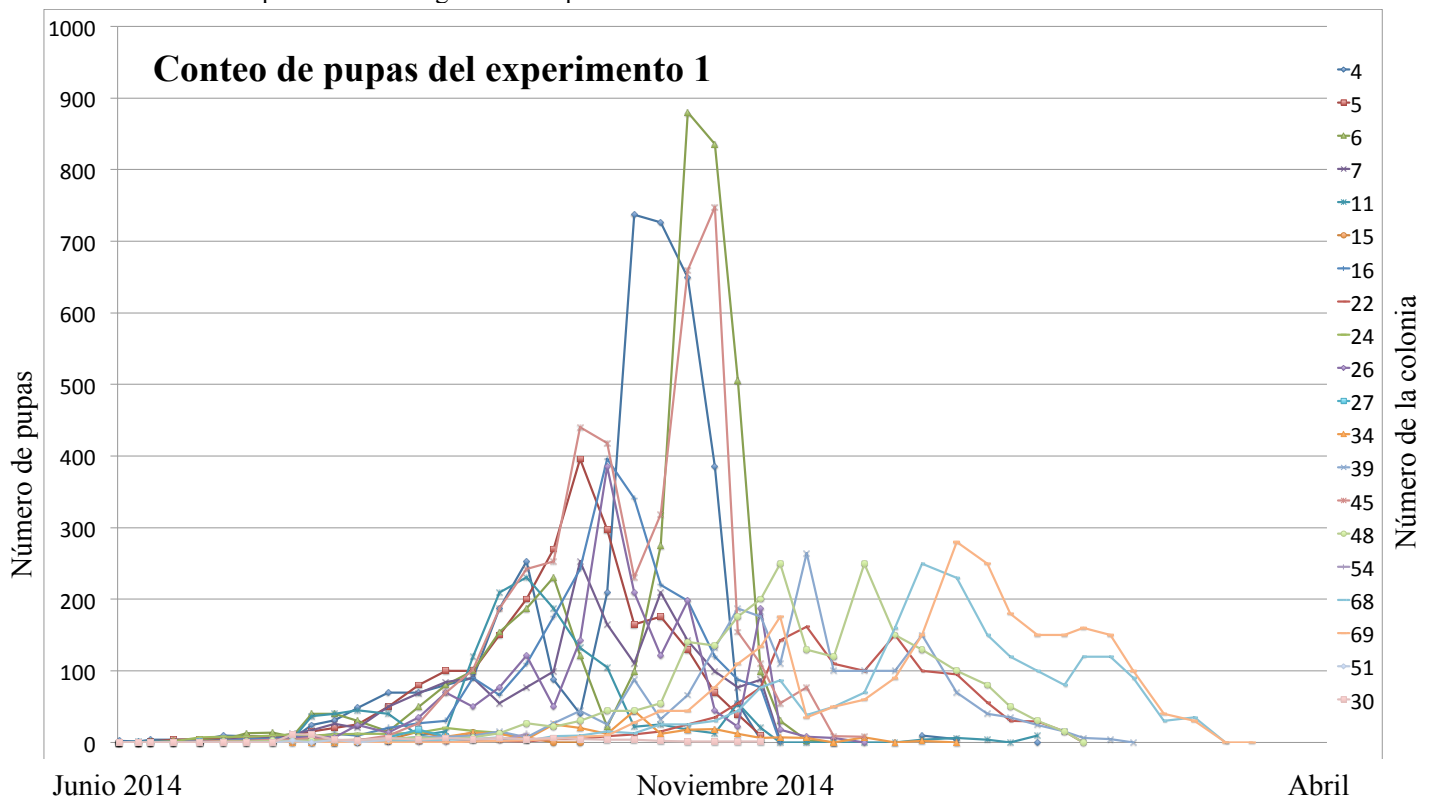
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	Etapa 4	Etapa 5
Experimento 1	100 %	36 %	29 %	23 %	19 %
Experimento 2	100 %	75 %	50 %	25 %	25 %
Experimento 3	100 %	56 %	29 %	8 %	—
Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003)	100 %	63 %	52 %	—	15 %
Laverty y Plowright (1985)	100 %	54,4 %	33 %	—	—
Salvarrey (2012)	100 %	49 %	30 %	—	—

Tabla 2. Tabla que muestra los porcentajes de reinas que pasaron a las siguientes etapas a lo largo del proceso de cría. Cada línea representa un experimento diferente realizado con *B. ephippiatus* (Experiencia 1,2 y 3, Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003),Laverty y Plowright (1985)) y *Bombus atratus* (Salvarrey (2012)).

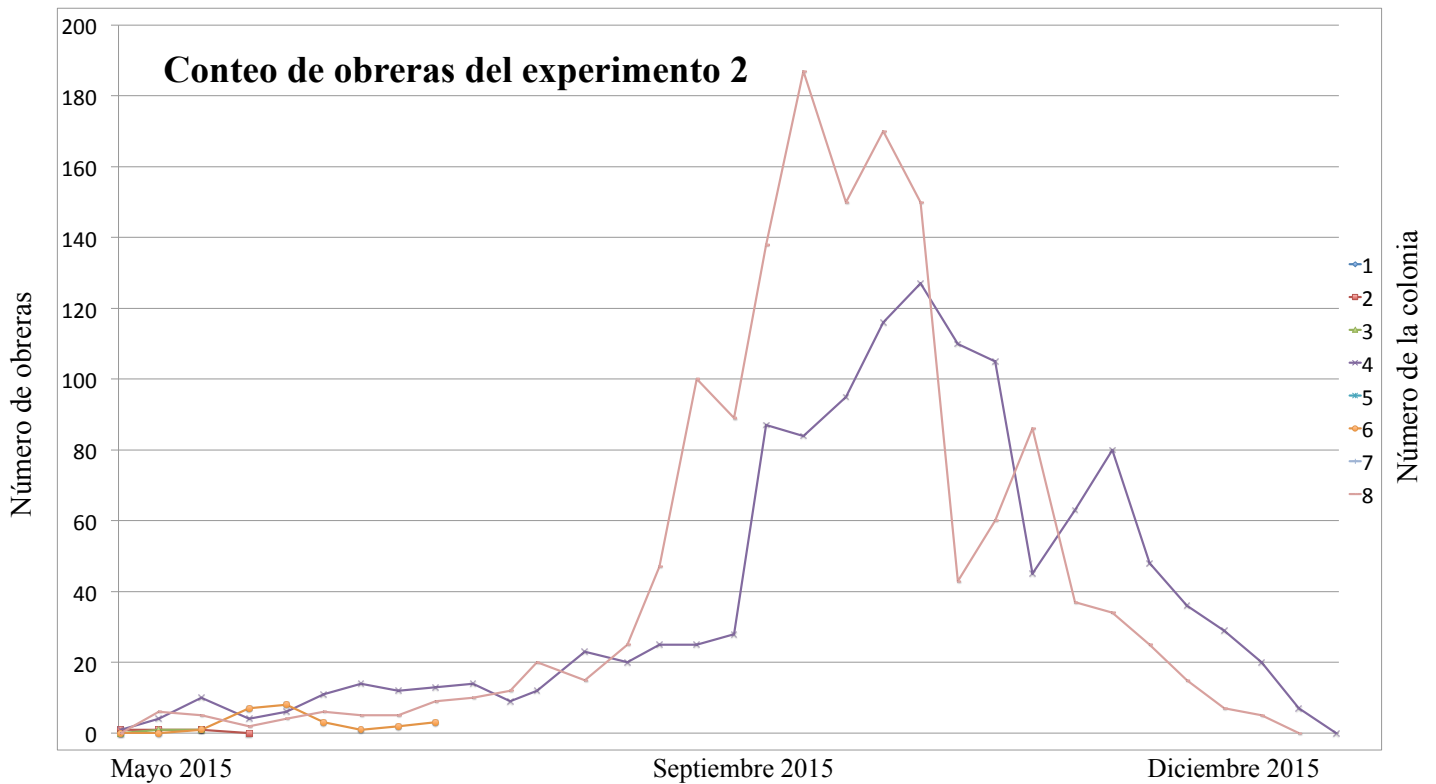
6.1.2 Diferencias en las gráficas de conteo de obreras y pupas



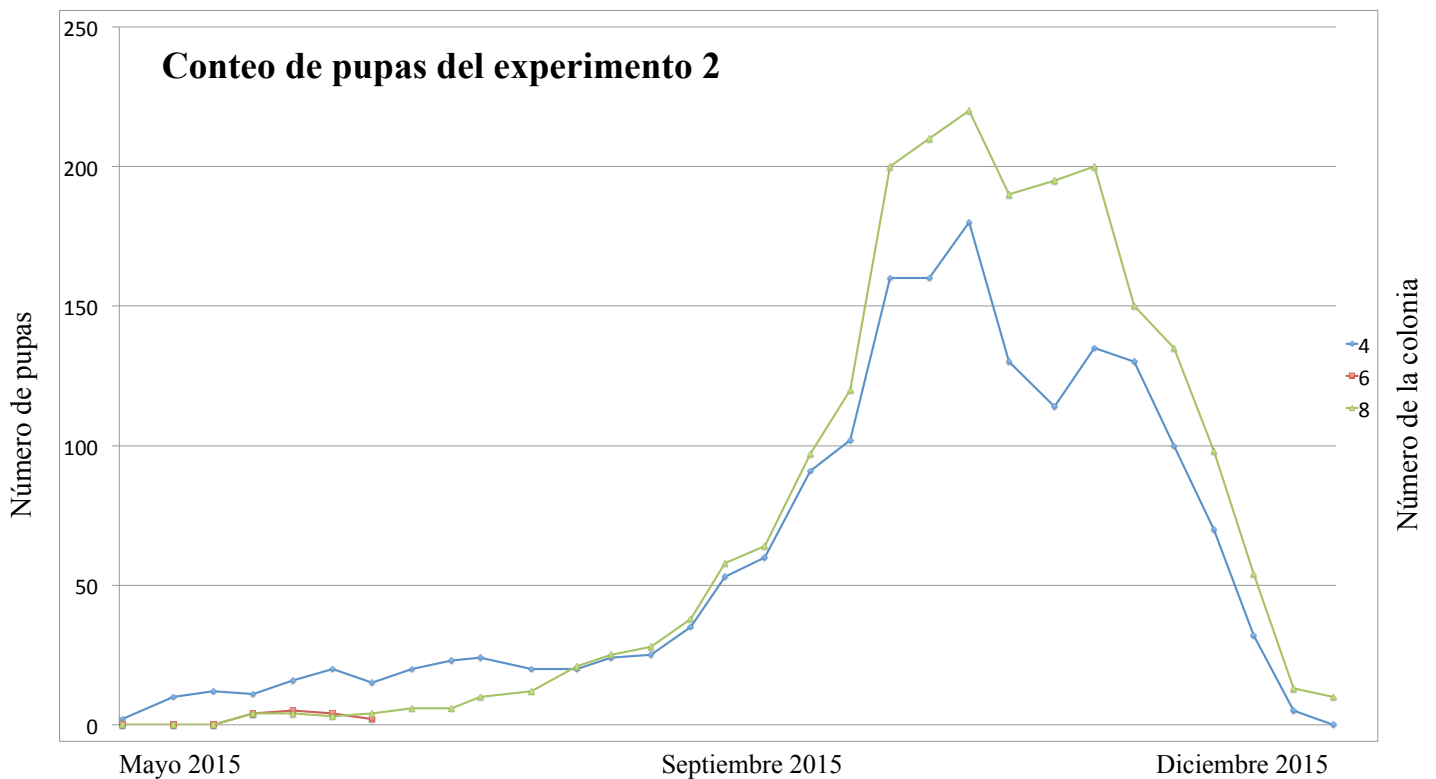
Gráfica 2. Gráfica de natalidad de obreras del estudio 1 a lo largo del tiempo donde cada línea representa una colonia diferente. Cada punto de cada colonia representa el número de obreras en determinada semana, durante el tiempo de duración de cada experiencia. En la gráfica se representan 20 colonias de 69 iniciales.



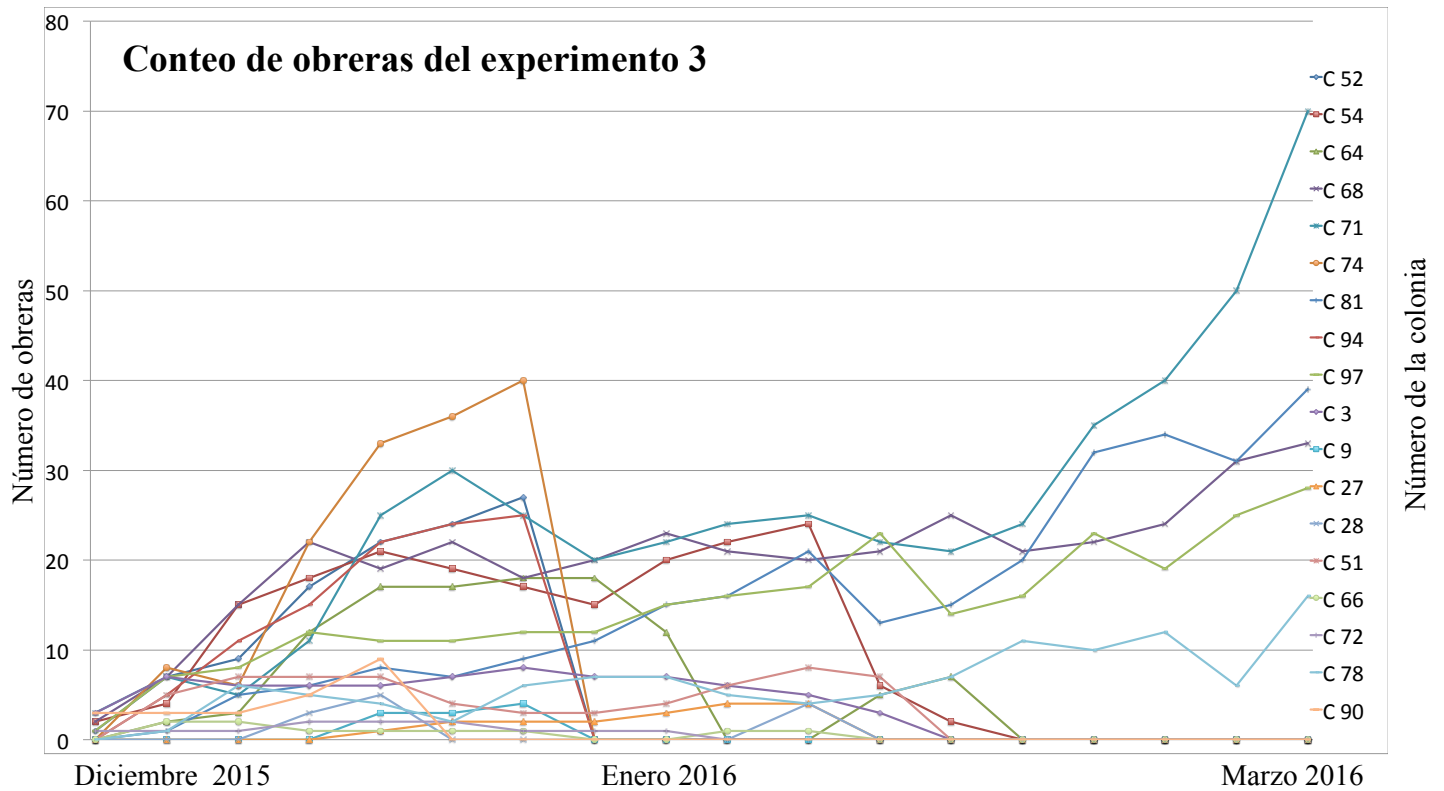
Gráfica 3. Gráfica de formación de pupas del estudio 1 a lo largo del tiempo donde cada línea representa una colonia diferente. Cada punto de cada colonia representa el número de pupas en determinada semana, durante el tiempo de duración de cada experiencia. En la gráfica se representan 20 colonias de 69 iniciales.



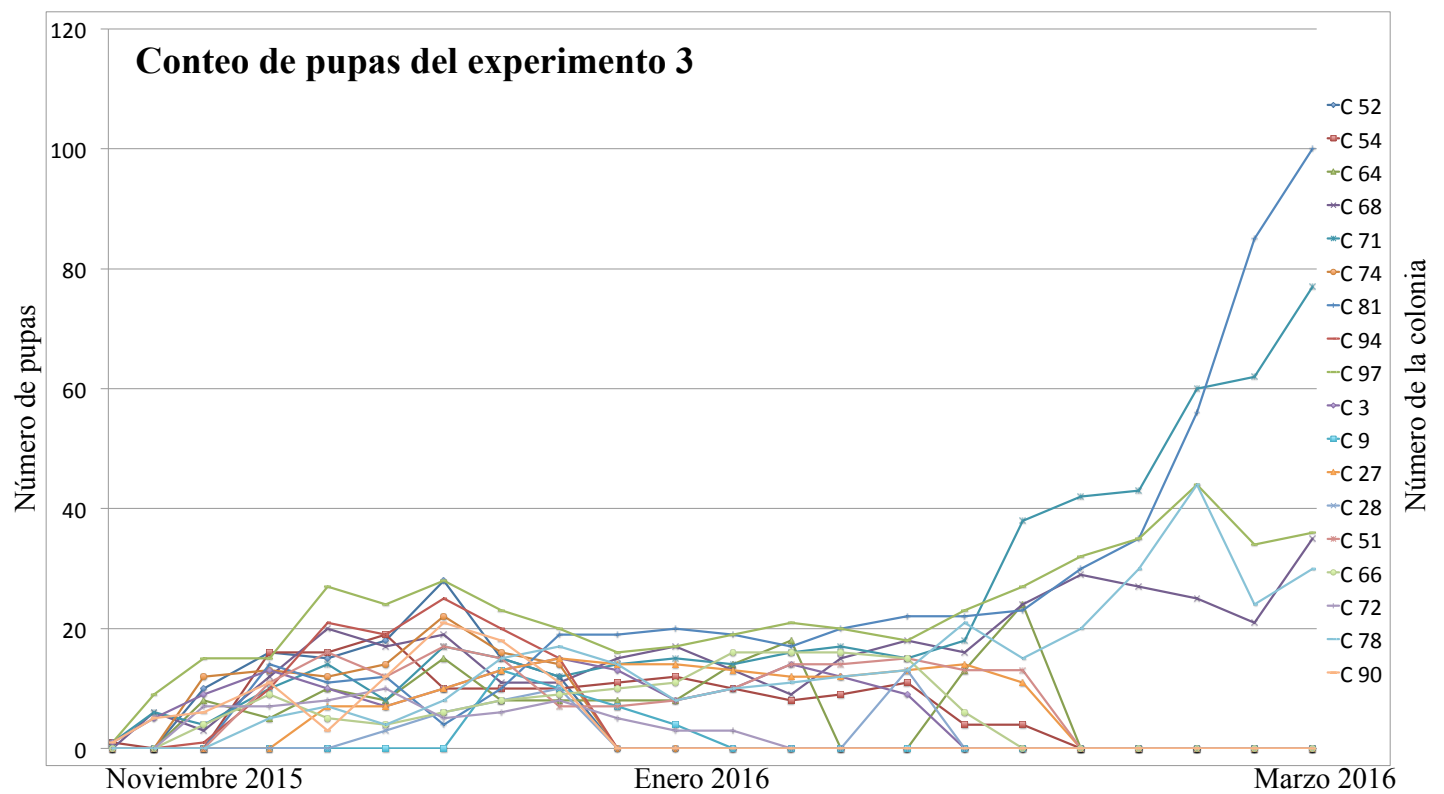
Gráfica 4. Gráfica de natalidad de obreras del estudio 2 a lo largo del tiempo donde cada línea representa una colonia diferente. Cada punto de cada colonia representa el número de obreras en determinada semana, durante el tiempo de duración de cada experiencia. En la gráfica se representan 3 colonias de 8 iniciales.



Gráfica 5. Gráfica de formación de pupas del estudio 2 a lo largo del tiempo donde cada línea representa una colonia diferente. Cada punto de cada colonia representa el número de pupas en determinada semana, durante el tiempo de duración de cada experiencia. En la gráfica se representan 8 colonias de 8 iniciales.



Gráfica 6. Gráfica de natalidad de obreras del estudio 3 a lo largo del tiempo donde cada línea representa una colonia diferente. Cada punto de cada colonia representa el número de pupas en determinada semana, durante el tiempo de



Gráfica 7. Gráfica de formación de pupas del estudio 3 a lo largo del tiempo donde cada línea representa una colonia diferente. Cada punto de cada colonia representa el número de pupas en determinada semana, durante el tiempo de duración de cada experiencia. En la gráfica se representan 18 colonias de 100 iniciales.

A continuación se muestran una serie de imágenes tomadas a lo largo del proceso de desarrollo de las colonias en cautiverio de *B. ephippiatus* con el fin de visualizar mejor los diferentes estadios larvarios y el proceso de anidación. En las imágenes se muestran individuos de *B. ephippiatus* en diferentes



Figura 1. Se observa el desarrollo de una obrera de *Bombus ephippiatus*. a) Etapa de huevo, pocas horas de vida. b) Etapa de larva, 14 días. c) Etapa de larva, 19 días. d) Etapa de pupa, 24



Figura 2. Se observa un nido de *Bombus ephippiatus* en una caja de desarrollo con alrededor de 50 obreras. La reina se encuentra incubando en la parte central derecha.



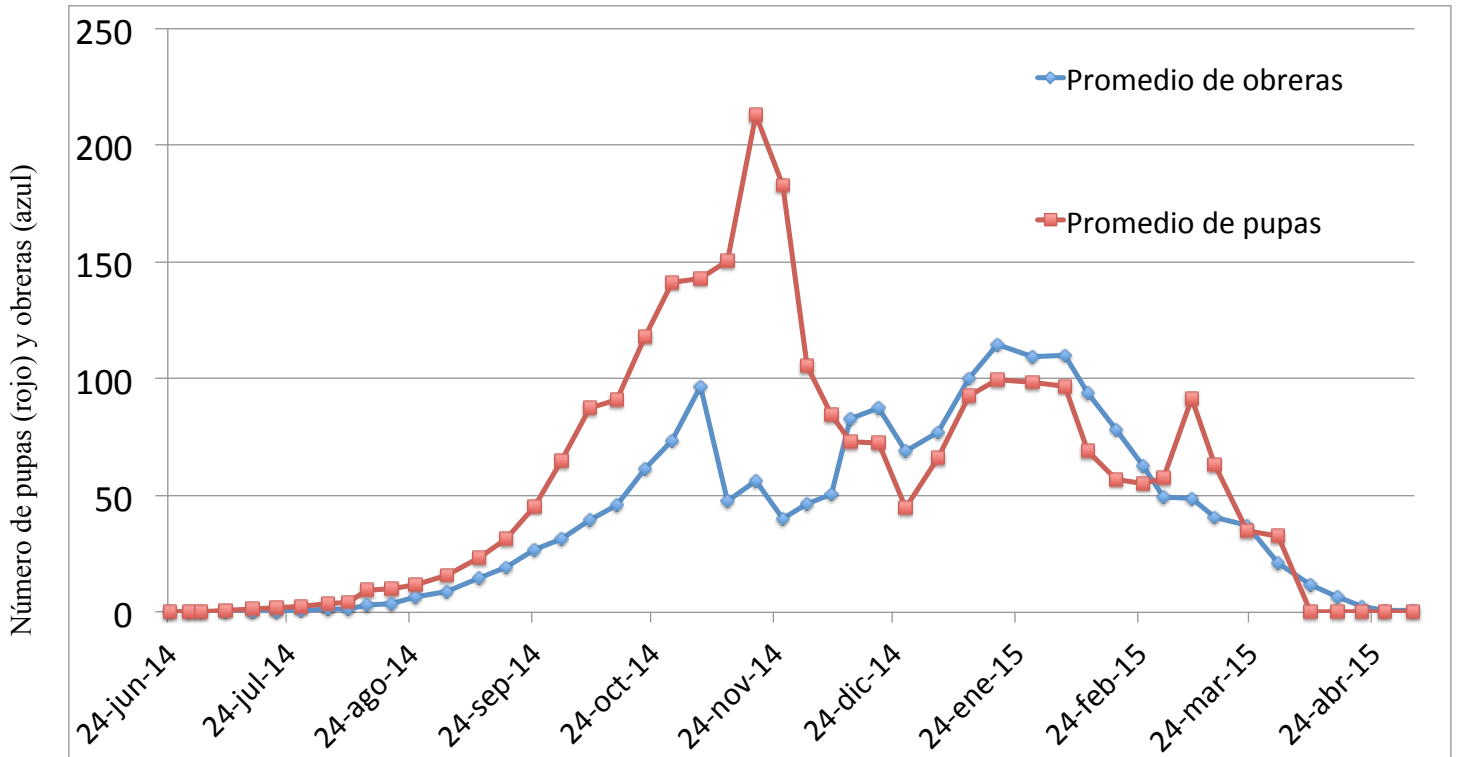
Figura 3. Se observan diferentes nidos fotografiados durante diferentes estadios de desarrollo del nido.
a) 2 días b) 12 días c) 14 días d) 24 días e) 36 días f) 55 días.

estadios de desarrollo así como colonias maduras y nidos desde su fundación hasta el nacimiento de 15 obreras.

6.2 Efectos de la humedad relativa y la temperatura en el desarrollo de las colonias de *B. ephippiatus*.

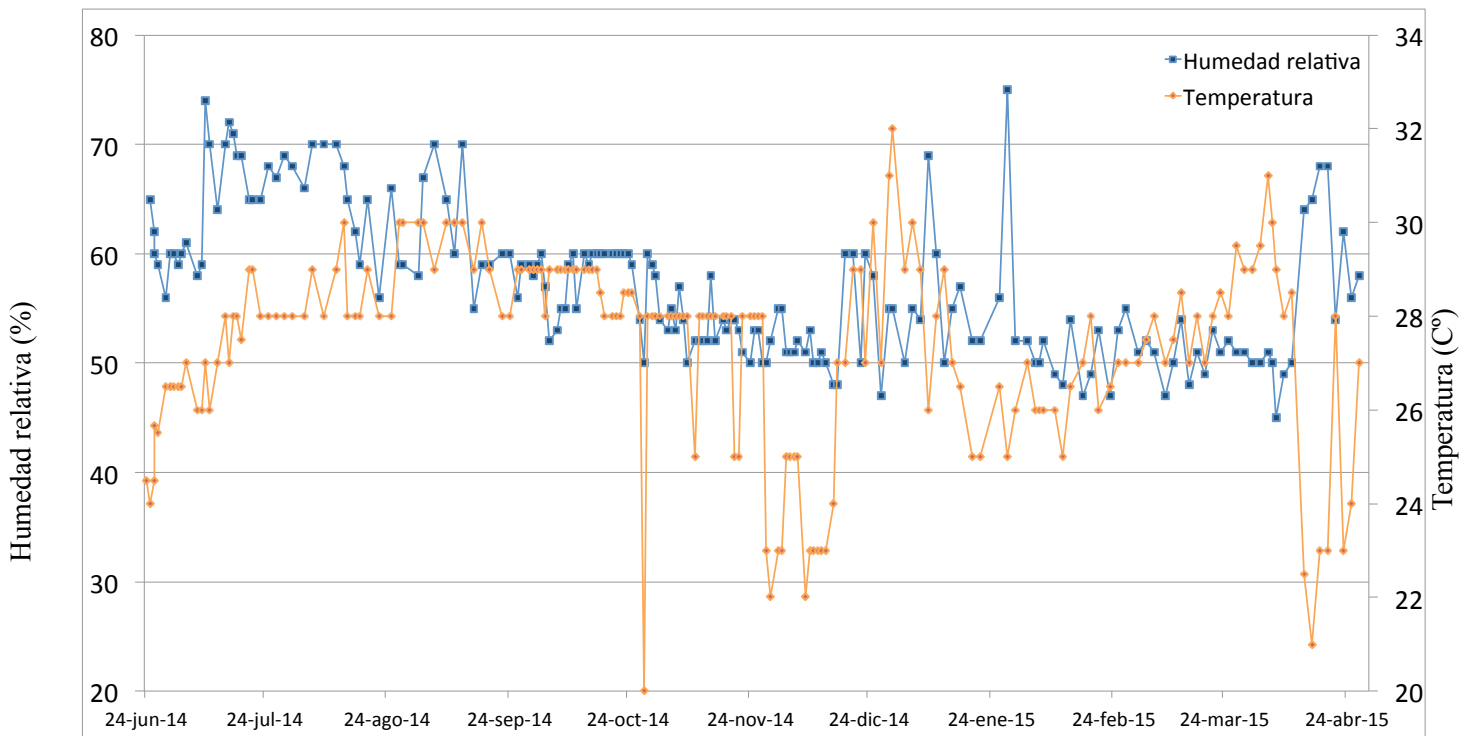
A continuación se muestran las gráficas que muestran el promedio de obreras y pupas durante cada semana para cada uno de los tres experimentos. Además se presentan la gráficas de los promedios semanales de las medidas de humedad relativa y temperatura del cuarto de cría para cada experimento. Esto con la finalidad de comparar el crecimiento de pupas y obreras con las medidas de temperatura y humedad relativa.

Gráfica de los promedios de la natalidad de obreras y formación de pupas del experimento 1



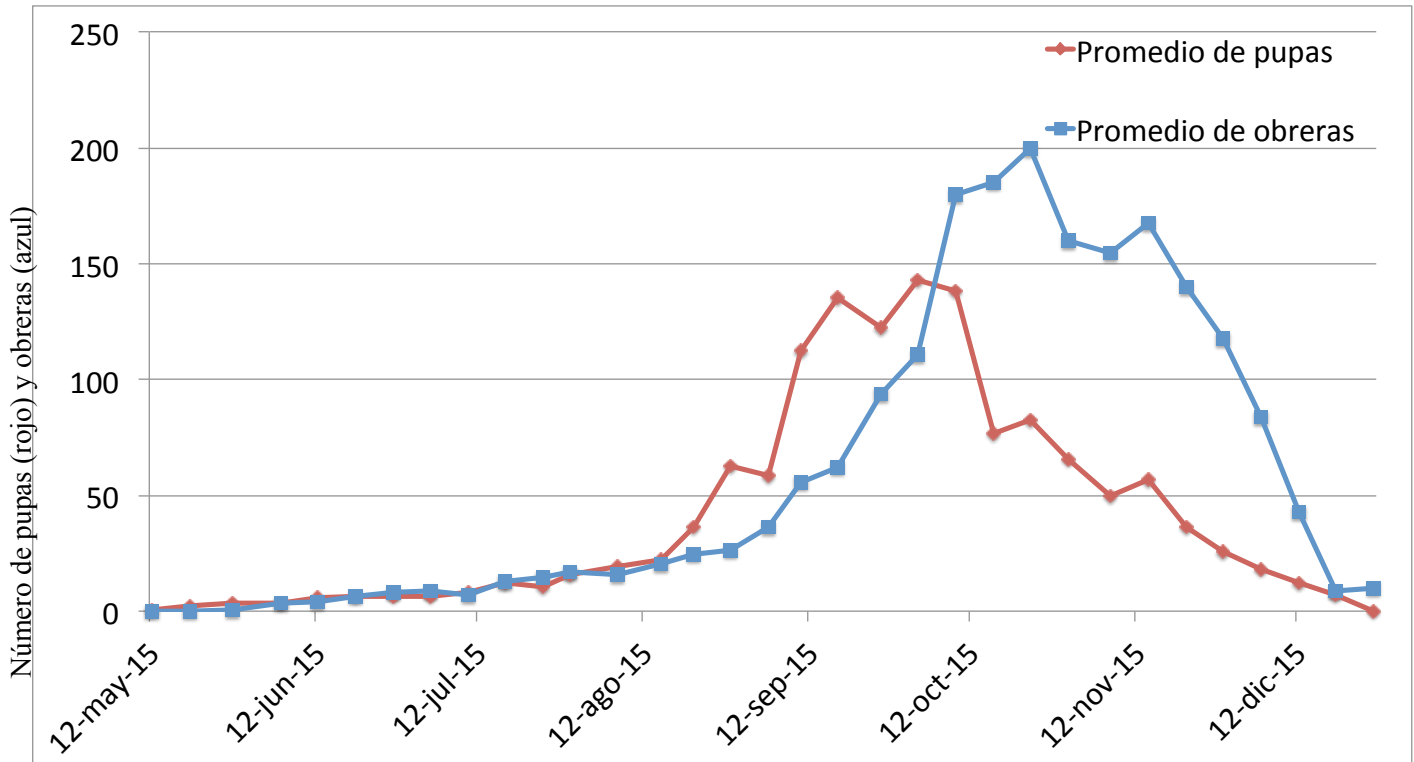
Gráfica 8. Gráfica del promedio de nacimiento de obreras y formación de pupas de las colonias del estudio 1 a lo largo del tiempo. La línea azul representa el promedio de obreras mientras que la línea roja el de pupas.

Gráfica de medidas de temperatura (C°) y humedad relativa (%) durante el experimento 1



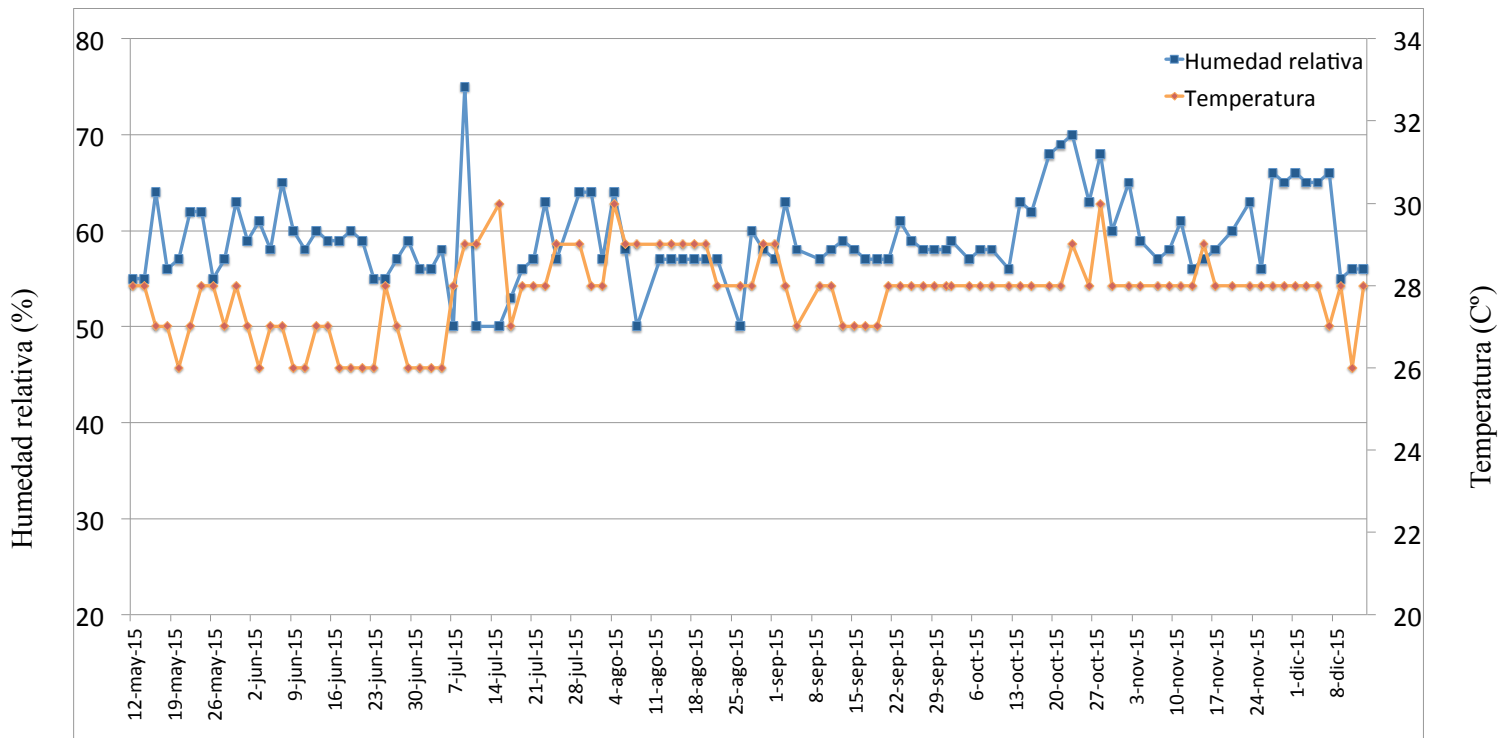
Gráfica 9. Gráfica de las medidas de temperatura y humedad relativa tomadas cada dos días a lo largo del experimento 1. La línea azul indica las medidas de humedad relativa mientras que la línea anaranjada los datos de temperatura.

Gráfica de los promedios de la natalidad de obreras y formación de pupas del experimento 2



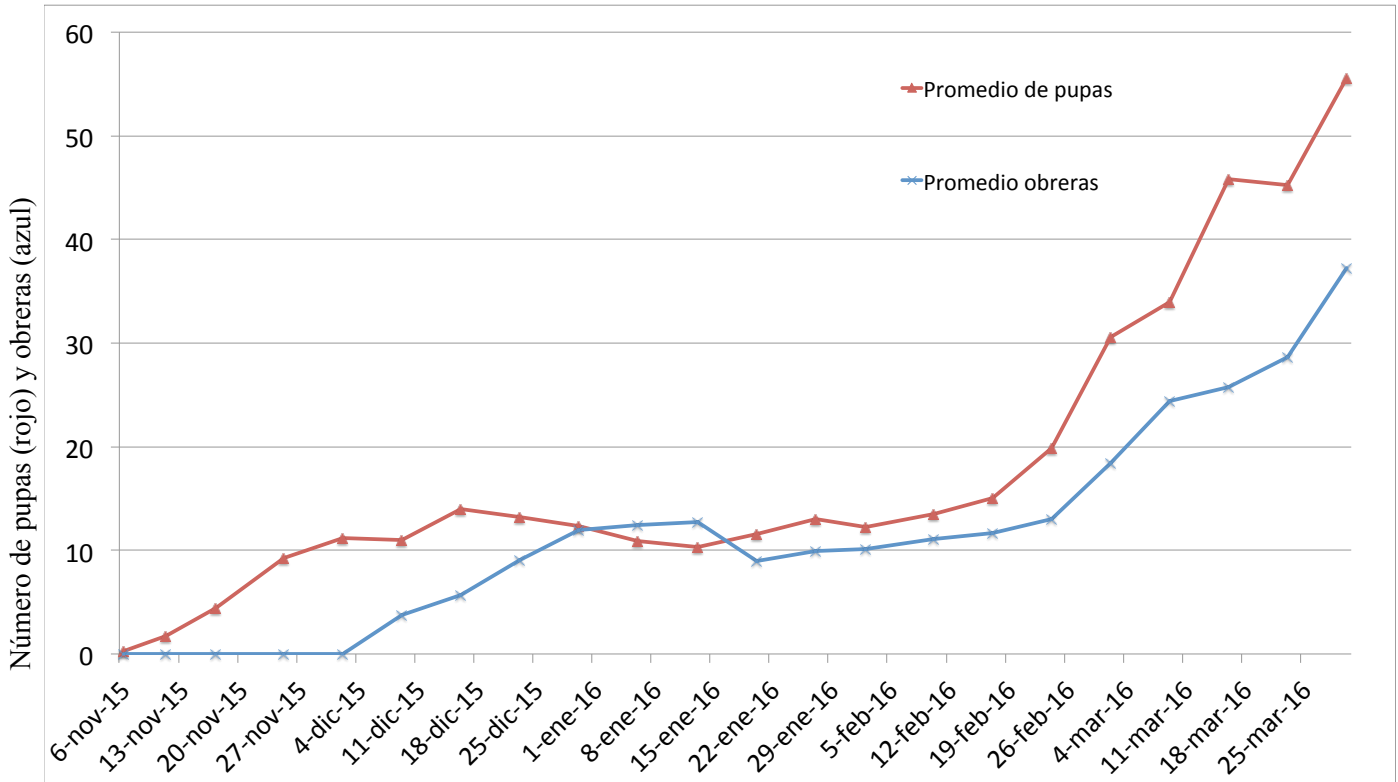
Gráfica 10. Gráfica del promedio de nacimiento de obreras y formación de pupas de las colonias del estudio 2 a lo largo del tiempo. La línea azul representa el promedio de obreras mientras que la línea roja el de pupas.

Gráfica de medidas de temperatura (C°) y humedad relativa (%) durante el experimento 2



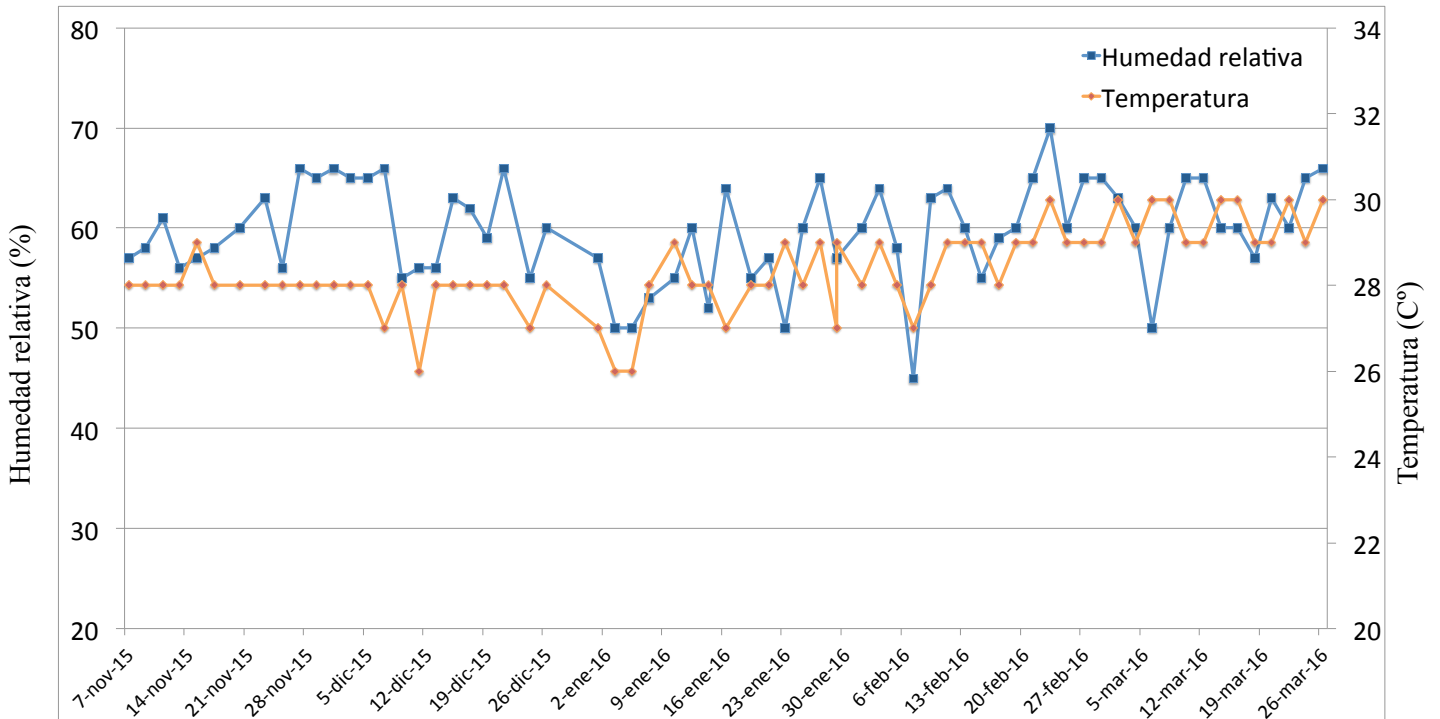
Gráfica 11. Gráfica de las medidas de temperatura y humedad relativa tomadas cada dos días a lo largo del experimento 2. La línea azul indica las medidas de humedad relativa mientras que la línea anaranjadas los datos de temperatura.

Gráfica de los promedios de la natalidad de obreras y formación de pupas del experimento 3



Gráfica 12. Gráfica del promedio de nacimiento de obreras y formación de pupas de las colonias del estudio 3 a lo largo del tiempo. La línea azul representa el promedio de obreras mientras que la línea roja el de pupas.

Gráfica de medidas de temperatura (C°) y humedad relativa (%) durante el experimento 3



Gráfica 13. Gráfica de las medidas de temperatura y humedad relativa tomadas cada dos días a lo largo del experimento 3. La línea azul indica las medidas de humedad relativa mientras que la línea anaranjada los datos de temperatura.

Con la intención de evaluar el efecto de la temperatura y la humedad en las gráficas de conteo aplicaron correlaciones de la humedad y la temperatura contra el número de obreras y pupas durante las semanas donde hubo las mayores bajas constantes de temperatura y humedad del experimento 1 y el experimento 3. El experimento 2 no se tomó en cuenta por el bajo número de muestra (n=8).

Tabla 3. Correlaciones de la humedad y la temperatura contra el número de obreras y pupas entre las semanas del 5 de noviembre al 14 de diciembre del 2015.

Modelos lineares	Valor de P	Valor de R2	Valor de R2 ajustada	Valor de F
promediopupas~ temperatura	0,006	0,8056	0,7667	20.72
promediopupas ~ humedadrelativa	0,1652	0,3455	0,2145	2 639
promedioobreras ~ temperatura	0.9017	-196	0.003365	0.01688
promedioobreras ~ humedad	0.3412	0.1811	0.003365	1 106

Tabla 4. Muestra la regresión estadística entre la variables independientes temperatura y humedad contra las variables dependientes promedio de pupas y promedio de obreras entre las semanas del 5 de noviembre al 14 de diciembre del 2015.

Correlaciones	Promedio de pupas	Promedio de obreras
Humedad relativa	0.9393364	-0.8866207
Temperatura	0.9486833	-0.8528029

Tabla 5. Correlaciones de la humedad y la temperatura contra el número de obreras y pupas entre las semanas del 16 de diciembre del 2015 al 6 de enero del 2016.

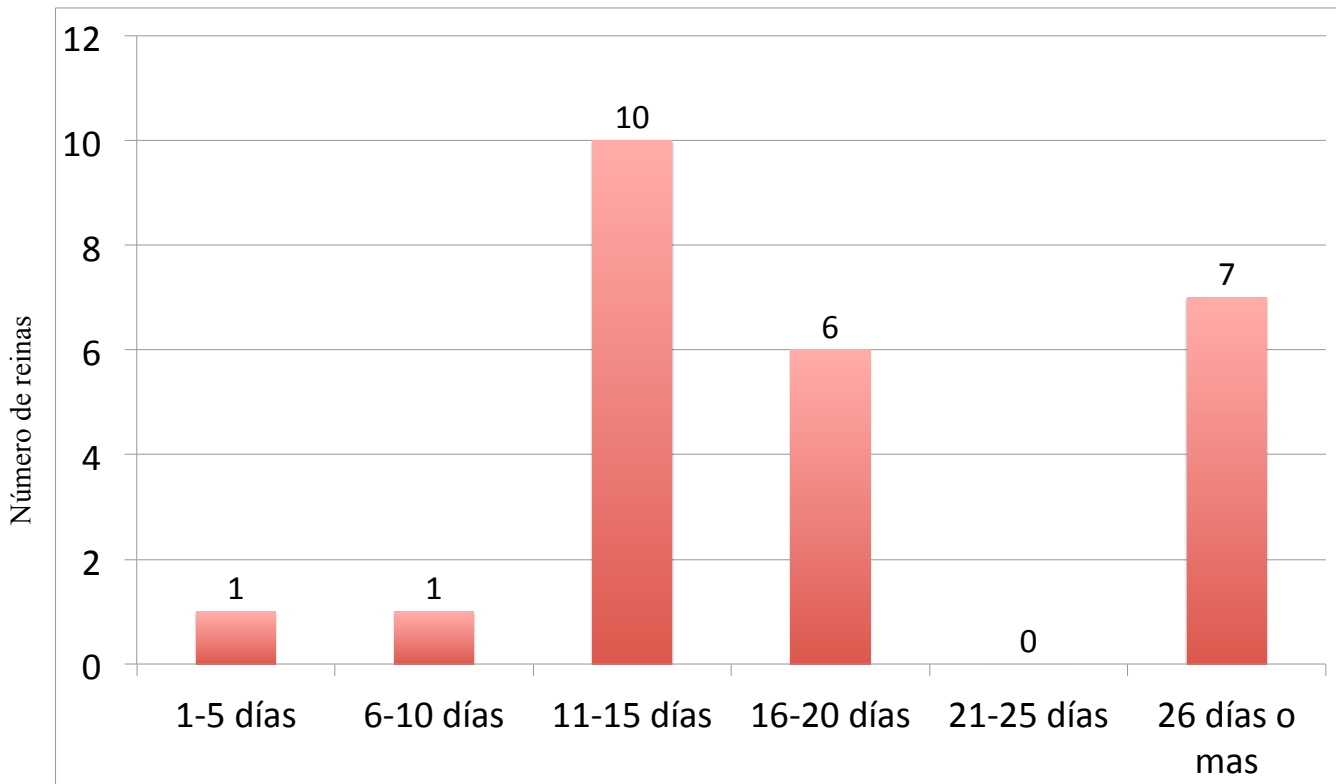
Modelos lineares	Valor de P	Valor de R2	Valor de R2 ajustada	Valor de F
promediopupas~ temperatura	0.05	0.9	0.85	18
promediopupas~ humedad	0.06	0.8824	0.8235	15
promedioobreras ~ temperatura	0.1472	0.7273	0.5909	5 333
promedioobreras ~ humedad	0.1134	0.7861	0.6791	7.35

Tabla 6. Los modelos 5,6,7 y 8 muestran la regresión estadística entre la variables independientes temperatura y humedad contra las variables dependientes promedio de pupas y promedio de obreras entre las semanas del 16 de diciembre del 2015 al 6 de enero del 2016.

6.3 Similaridades y diferencias en los tiempos de fundación de nido de reinas de *B. ephippiatus*. 6.3.1 Relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas.

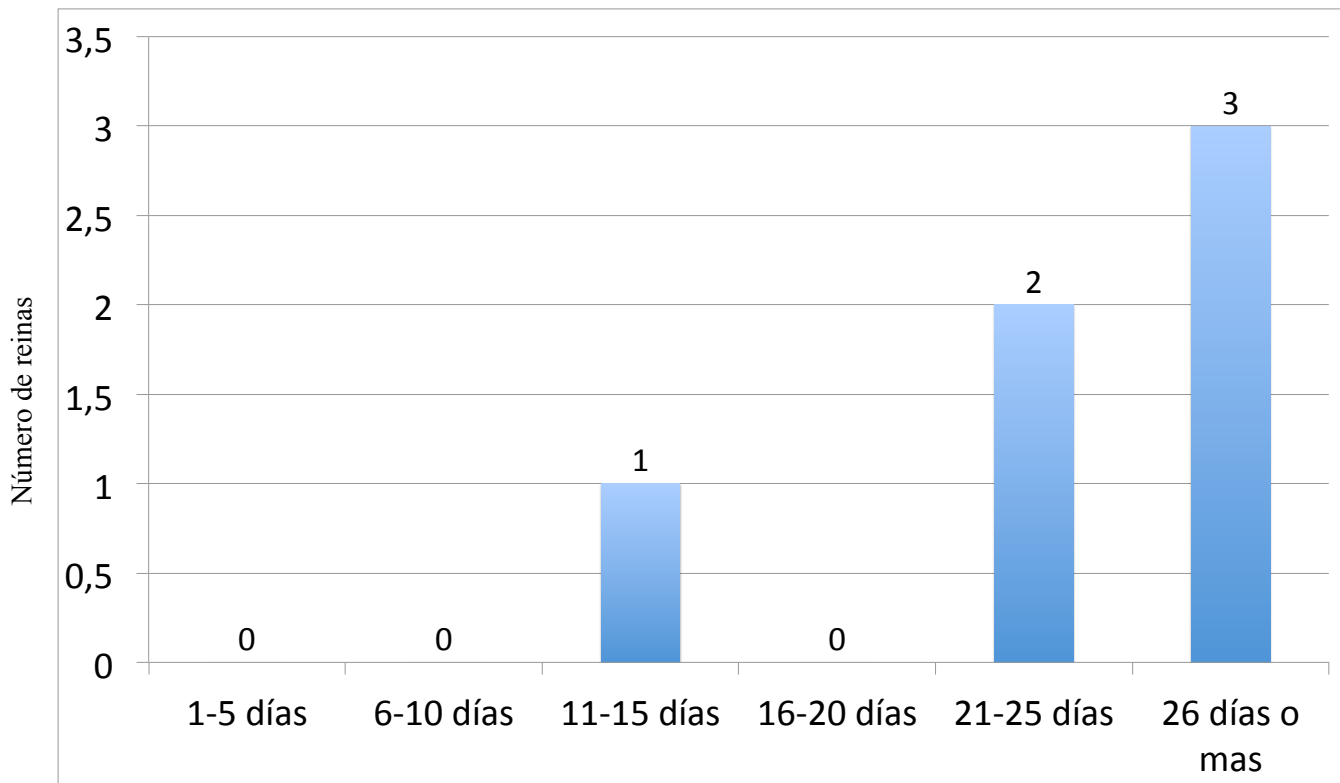
A continuación se muestran tres gráficas que muestran los días que tardaron las reinas en fundar un nido (primera ovoposición) para cada uno de los tres experimentos. Posteriormente se presenta un análisis de la relación entre el número de obreras a las 6 semanas contra el número de días que tardarían las reinas en fundar un nido. Esta relación se hizo para los experimentos 1 y 3. Esta relación se hizo porque al observar los resultados, estos indicaban que las reinas que eran más rápidas en hacer un nido también tenían colonias más grandes a las pocas semanas de haberse iniciado.

Gráfica de los tiempos de fundación de nido para las reinas de *B. ephippiatus* del experimento 1



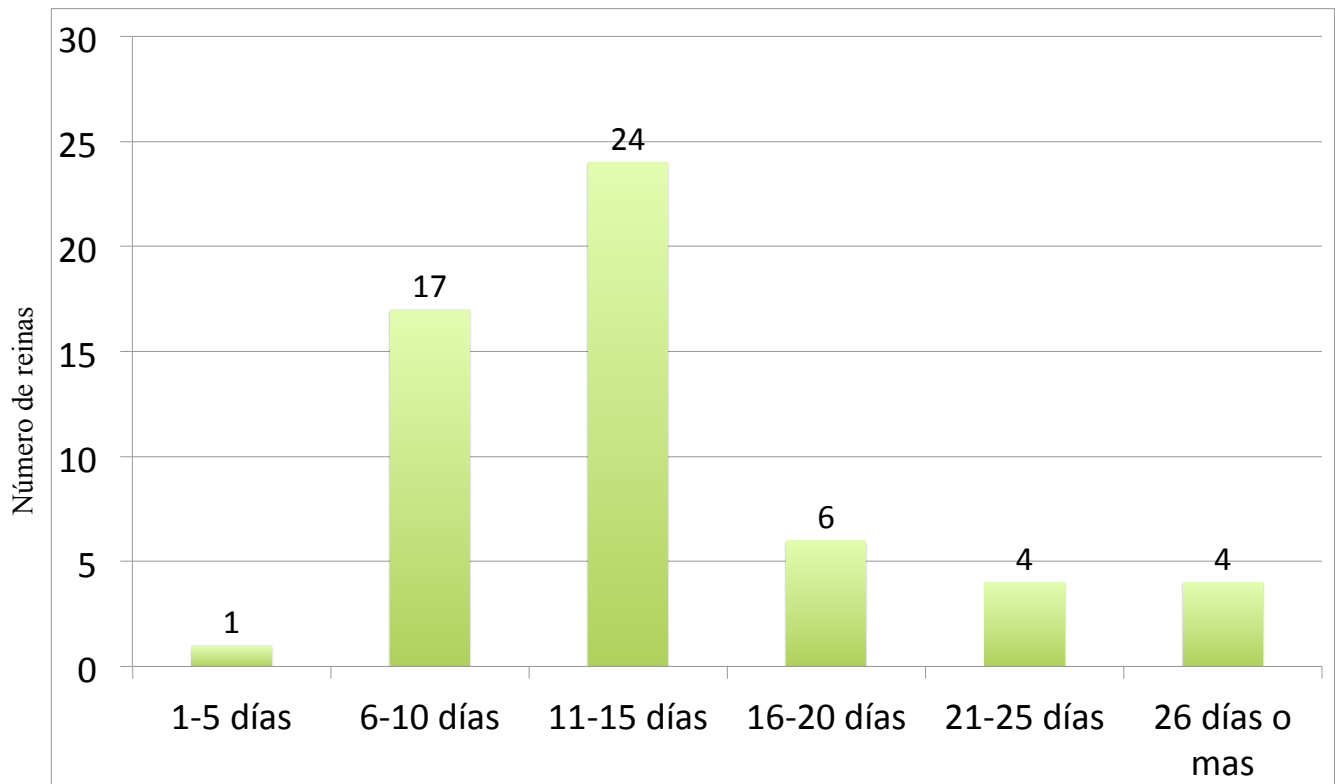
Gráfica 14. Gráfica de fundación de nido del estudio 1. Cada barra representa el número de reinas que fundaron un nido durante un número determinado de días. En la gráfica se representan 25 colonias de 69 iniciales.

Gráfica de los tiempos de fundación de nido para las reinas de *B. ephippiatus* del experimento 2



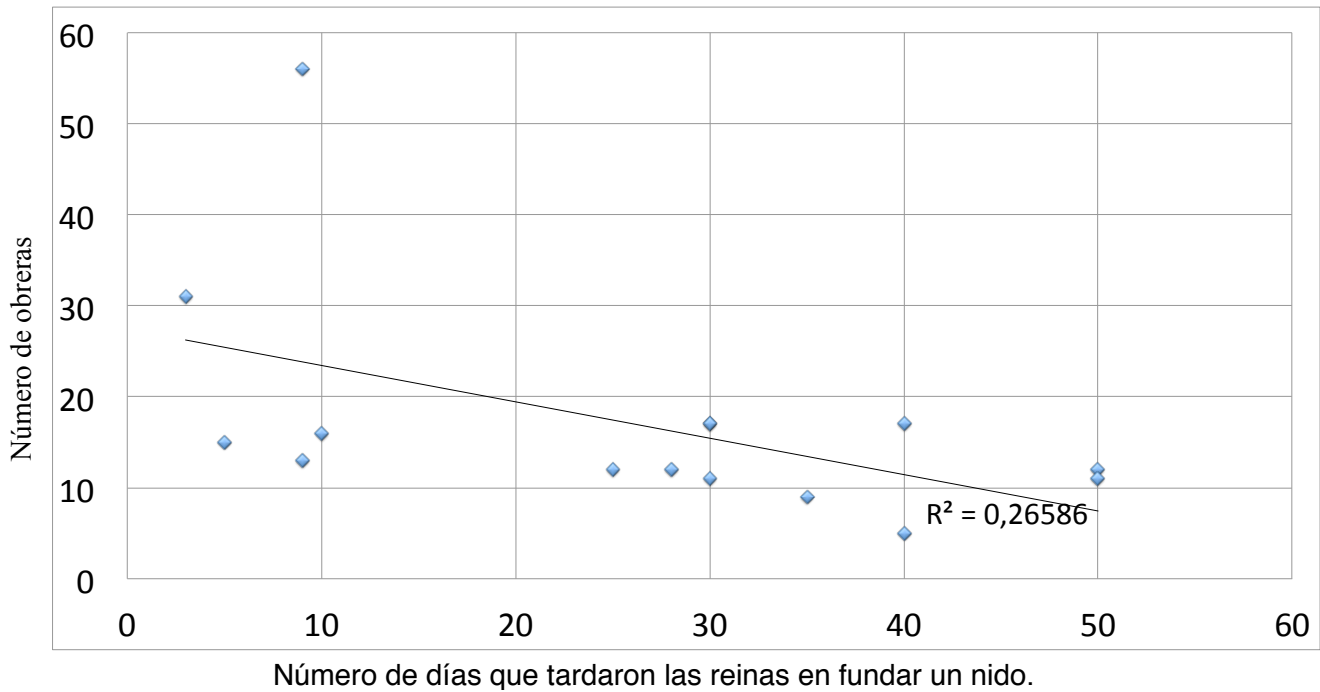
Gráfica 15. Gráfica de fundación de nido del estudio 2. Cada barra representa el número de reinas que fundaron un nido durante un número determinado de días. En la gráfica se representan 6 colonias de 8 iniciales.

Gráfica de los tiempos de fundación de nido para las reinas de *B. ephippiatus* del experimento 3



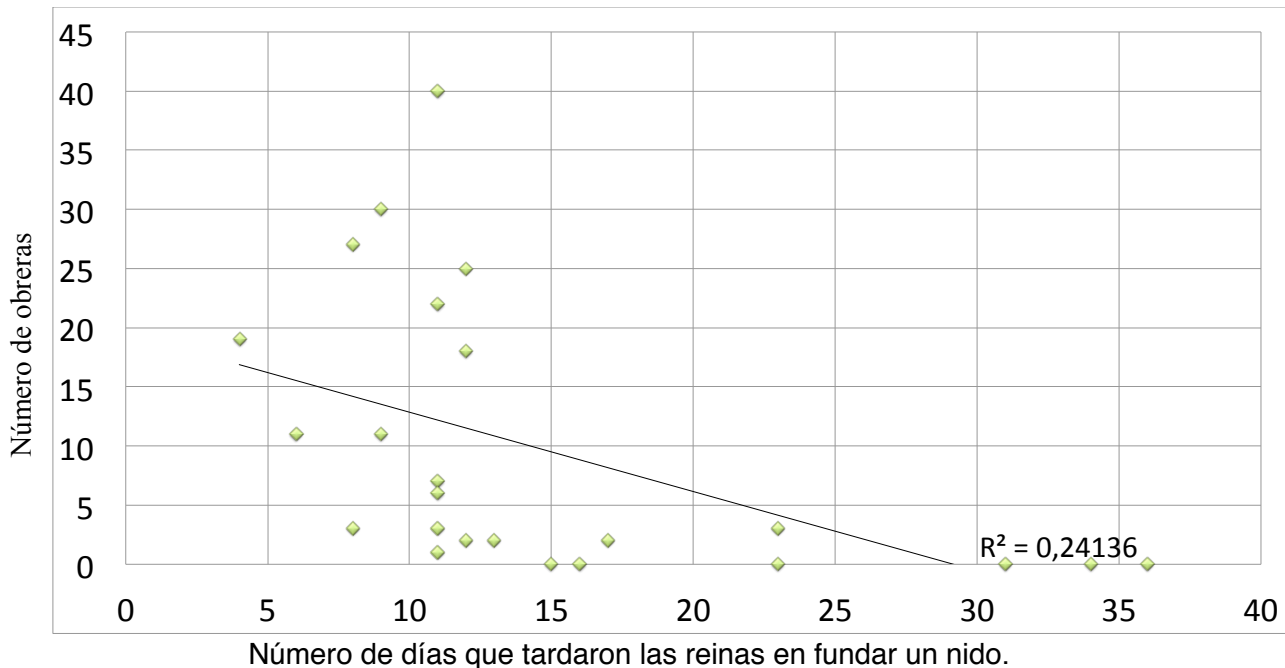
Gráfica 16. Gráfica de fundación de nido del estudio 3. Cada barra representa el número de reinas que fundaron un nido durante un número determinado de días. En la gráfica se representan 56 colonias de 100 iniciales.

Gráfica de la relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas para el experimento 1



Gráfica 17. Gráfica que muestra la correlación entre la fundación de nido con el número de obreras a las 6 semanas en el experimento 1 ($R^2= 0.26$, $F = 4.7$, $P < 0.05$).

Gráfica de la relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas para el experimento 3



Gráfica 18. Gráfica que muestra la correlación entre la fundación de nido con el número de obreras a las 6 semanas en el experimento 3 ($R^2= 0.24$, $F = 5.7$, $P < 0.05$).



Figura 4. Se observan dos nidos momentos antes de que la reina ovoposite por primera vez sobre la celda creada en la capa de polen. Ambas imágenes ilustran bien la etapa de la fundación del nido.



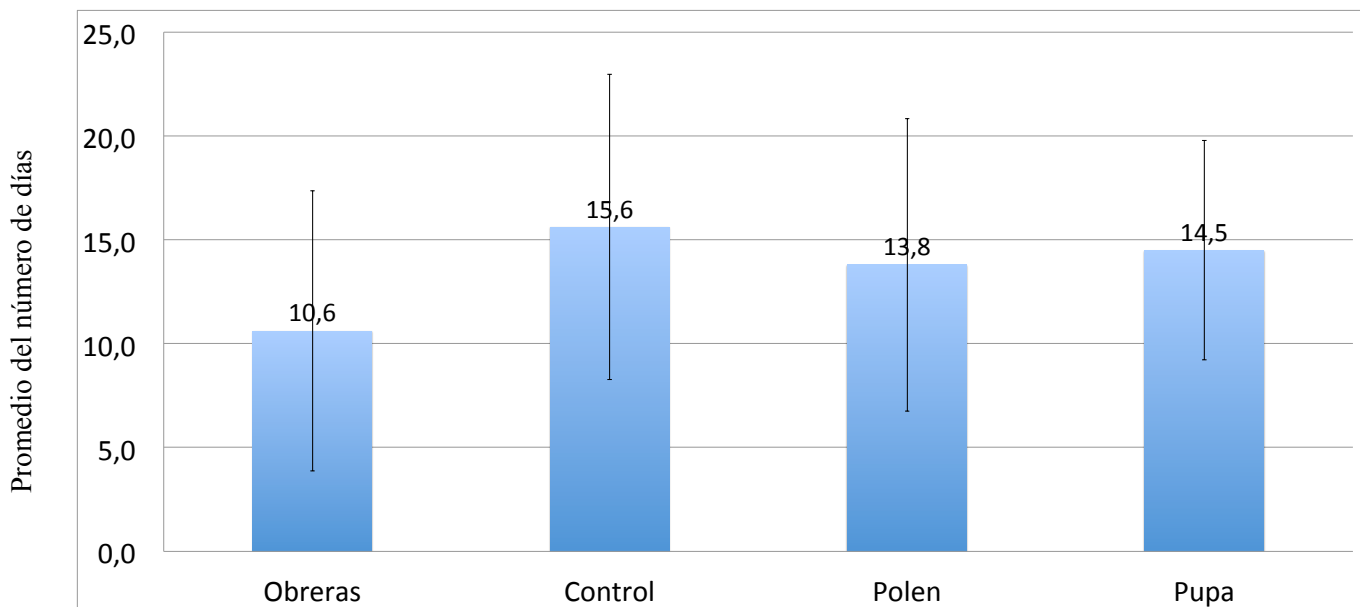
Figura 5. Se observa la celda de cera creada por la reina durante el inicio del desarrollo de un nido. En esta celda la reina depositará néctar y polen para poder cuidar e incubar sus

A continuación se muestran una serie de imágenes sobre el proceso de anidación. En las imágenes se muestran los nidos de algunas de las reinas de *B. ephippiatus* horas antes de iniciar la primer ovoposición.

6.4 Evaluación de diferentes métodos de estimulación para la fundación de nido en reinas de *B. ephippiatus*

Para el experimento 3 se evaluaron 4 diferentes métodos de estimulación de reinas fecundadas para que fundaran una colonia. Con el fin de conocer si algún tratamiento tenía un efecto significativo en el número de días que tardan las reinas silvestres en fundar un nido corrí un análisis de tipo ANOVA (F =

Gráfica de los tratamientos para estimular fundación de nido



Gráfica 19. Gráfica de tratamientos para estimular la fundación de nido. Cada barra representa el promedio de días que tardaron las reinas en fundar un nido bajo cuatro tratamientos elegidos: obreras, control, polen y pupas. Ningún tratamiento difirió significativamente de los otros (ANOVA: F = 0.948, P = 0.433).

0.948, P = 0.433) con los datos obtenidos del experimento 3.

7 Discusiones

7.1 Comparación entre los tres experimentos realizados en ECOSUR. Diferencias en los porcentajes de las reinas de *B. ephippiatus* durante las diferentes etapas de desarrollo. Diferencias en las gráficas de conteo de obreras y pupas

7.1.1 Porcentajes de las reinas de *B. ephippiatus* durante las diferentes etapas de desarrollo

A continuación se discute la supervivencia de las reinas a lo largo de las 5 etapas de desarrollo.

1) Captura de las reinas; 2) Iniciación de la colonia (imagen 1); 3) Nacimiento de la primera obrera. ; 4) Nacimiento de 15 obreras (imagen 3f) ; 5) Producción de reinas vírgenes y zánganos.

Etapa 1

La captura de las reinas.

Etapa 2

Esta etapa se refiere a la fundación del nido, es decir, la primera ovoposición de la reina (imagen 1). A lo largo del proceso de cría el número de reinas que pasa a las siguientes etapas disminuye, sin embargo, la mayor reducción es entre las etapas 1 y 2 para los experimentos 1 y 3 (el experimento 2 disminuye de manera constante debido al poco número de muestra, $n=8$).

En el experimento 1 el 36% de las reinas ovopositaron mientras que en los estudios 2 y 3 fueron 75% y 56% respectivamente. El 75% del experimento 2 no está muy sustentado debido al reducido número de muestra ($n=8$), sin embargo, la diferencia de porcentajes entre el experimento 1 y el experimento 3 pudo deberse a la diferencia en los tiempos de colecta de las reinas silvestres. El total de reinas de los tres experimentos es de 177 y la probabilidad de que inicien un nido es de 49.15%.

Contrastando estos porcentajes con estudios anteriores, Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003) ($n=27$) reportaron un éxito de ovoposición del 63%. Por otro lado Lavery y Plowright (1985) ($n=55$) reportaron un éxito del 54.4%, resultado similar a los mencionados anteriormente. Las diferencias en los resultados de éxito en la fundación del nido pueden deberse a factores poco predecibles (condiciones externas, higiene, salud) al tratarse de reinas silvestres (Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas, 2003).

Es esperado que la mayoría de las reinas muera antes de la etapa 2 ya que al atrapar reinas silvestres no se sabe en qué estado vienen estas reinas (Salvarrey, 2012). Además Evans et. al. (2007) sugiere que si ya iniciaron un nido en la naturaleza es muy poco probable que lo inicien nuevamente en cautividad y si no están apareadas tampoco serán nidos viables. Otra posible razón de muerte de reinas en las cajas

de inicio puede deberse a su poca adaptabilidad a las condiciones de laboratorio. Su impedimento de volar y defecar dentro de sus cajas aumenta la incidencia de patógenos y parásitos repercutiendo finalmente su condición sanitaria (Schmid-Hempel 2001; Salvarrey, 2012). La muerte de las reinas, especialmente en los días siguientes a introducirlas en las cajas de inicio es el principal problema encontrado en los experimentos de cría de *B. ephippiatus* realizados en ECOSUR.

Los pocos porcentajes de ovoposición de reinas silvestres podrían mejorar al evitar atrapar reinas que no se hayan apareado, ya que tampoco iniciarán un nido en cautividad. Los problemas de no conocer el estatus fisiológico de las reinas crean dificultades durante el manejo de reinas silvestres, ya que si únicamente alrededor del 50% de las reinas inician un nido, eso significa que la pérdida de reinas silvestres es alta y el proceso de cría es poco eficiente. Un método sugerido con fines de conservación es no atrapar reinas silvestres que tengan polen en las patas ya que significa que ya han iniciado un nido en la naturaleza (Evans et. al., 2007).

Etapa 3

Esta etapa se refiere al nacimiento de la primer obrera. En los estudios 1, 2 y 3 se obtuvieron porcentajes de 29%, 50% y 29% de colonias que alcanzaron esta 3 etapa respectivamente.

Porcentajes alrededor de 30-50% representan porcentajes por menos de la mitad, sin embargo Delaplane (1996) considera que un 30% de reinas que den origen a obreras es un porcentaje bueno entre los criadores de abejorros. Además, contrastando con trabajos anteriores, Laverty y Plowright (1985) reportaron que de 55 reinas colectadas el 33% da origen a obreras. En trabajos más recientes como el de Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003) se reportó un 51,9% de éxito en reinas que da origen a obreras. Esto podría indicar que con el tiempo la técnica sigue siendo muy parecida y por lo tanto los porcentajes siguen siendo muy similares a aquellos de trabajos más antiguos. Por lo que quedaría verificar si estos porcentajes se deben a la biología y poca adaptación a las condiciones en cautiverio de las reinas de *B. ephippiatus*, o simplemente a la falta de una técnica mejorada.

Por otro lado Salvarrey (2012) trabajando con 89 reinas silvestres obtuvo un 30% de colonias donde nació al menos una obrera, este bajo porcentaje se debe a las especies con las que trabajaron, ya que *Bombus atratus* y *Bombus bellicosus* pertenecen al grupo de abejorros “hacedores de bolsillo”, grupo más difícil de criar en un laboratorio (Plath 1923, Ptacek y Drobna 2006, Velthuis, 2006).

Etapa 4

Elegí el nacimiento de 15 obreras como etapa 4 porque cuando las colonias alcanzaban este número de obreras eran cambiadas de las cajas de inicio a las cajas de desarrollo. Esto se estipuló así porque con 15 obreras el espacio empieza a ser reducido en las cajas de inicio, hay más estrés con movimientos y los recursos son insuficientes.

En el estudio 1 un 23% de las reinas iniciales logra obtener 15 obreras, en el estudio 2 un 25% y finalmente en el estudio 3 el 8%. Se trata de porcentajes menores a un cuarto de la población inicial.

Nuevamente estos porcentajes pueden deberse a factores poco predecibles como las condiciones externas, la higiene y el tipo de polen suministrado durante el proceso de cría (Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas 2003). Este bajo porcentaje tiene fuertes repercusiones en el manejo de reinas salvajes por su alta mortalidad y saqueo de fauna silvestre.

Es importante implementar métodos que aumenten este porcentaje de supervivencia y que mejoren la calidad de las reinas en condiciones de cautividad. Cuando las colonias llegan a la etapa 4 la probabilidad de muerte se reduce drásticamente. Se trata de colonias resistentes, productivas y listas para ser utilizadas como polinizadores en invernaderos de cultivos para consumo humano.

Etapa 5

En esta etapa las colonias inician su producción de reinas vírgenes y zánganos, última etapa en el ciclo de vida (Goulson, 2010). Las reinas de los experimentos 1 y 2 que alcanzan la quinta etapa representan un número bajo, donde únicamente el 19 y 25% de las colonias producen reinas y zánganos. Es importante resaltar que la mayoría de las colonias que alcanzó la etapa 4 alcanza la etapa 5. Esto quiere decir que las colonias que tienen 15 obreras son colonias que muy probablemente sigan su desarrollo sin problemas. Al comparar con otros estudios es importante remarcar que también han obtenido porcentajes bajos no muy diferentes, donde únicamente el 15% da origen a zánganos y/o reinas (Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas, 2003).

Se trata de la etapa más importante para la conservación por la introducción de reinas vírgenes y machos en estado silvestre. La liberación de formas sexuales de *B. ephippiatus* promueve técnicas para la preservación de la especie.

Repercusiones en manejo y saqueo de reinas salvajes

De los 3 estudios realizados en ECOSUR y estudios anteriores con *B. ephippiatus* (Lavery y Plowright, 1985 ; Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas 2003) se discutió anteriormente los bajos porcentajes de colonias que producen zánganos y reinas vírgenes (del 15 al 25%). Este bajo porcentaje tiene grandes repercusiones en el manejo y saqueo de reinas del estado silvestre, ya que indica que cerca de un 75% de las otras reinas capturadas morirá o nunca llegará a la etapa 5. Para estudios posteriores queda corroborar si este alto porcentaje se debe a la biología de las reinas o a posibles fallas en la técnica de cría utilizada. Sugiero que sería de gran utilidad conocer que ocurre en la naturaleza, encontrar el porcentaje de reinas de una colonia que alcanza la etapa 5.

Otro dato importante para tener en cuenta es el tiempo transcurrido entre la entrada de las reinas a las cajas de inicio y el nacimiento del a primer obrera. En los experimentos 1, 2 y 3 el tiempo transcurrido fue de aproximadamente 50 días. Se trata de información relevante para planificar la cría artificial de abejorros con vistas a obtener colonias en periodos definidos, por ejemplo, para polinizar cultivos específicos (Salvarrey, 2012).

7.1.2 Diferencias en las gráficas de conteo de obreras y pupas

Gráficas de natalidad de obreras:

En las gráficas únicamente se muestran los nidos de tres o más semanas de vida. Esto con la finalidad de que se observaran mejor los nidos en las gráficas. Las colonias del experimento 3 se estudiaron por 8 meses (tiempo de la estancia estipulado en Chiapas) y por eso no alcanzan un punto máximo.

Las curvas de natalidad de obreras de las gráficas de los experimentos 1, 2 y 3 (gráficas 2, 4 y 6) adoptan un crecimiento de tipo logístico con respecto al tiempo de desarrollo de las colonias. Esto significa que el nacimiento de obreras a lo largo del ciclo de vida de la colonia no es constante (Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas 2003).

Durante las primeras semanas la natalidad de obreras es muy baja debido a que al inicio sólo está la reina y muy pocas obreras (las de la primer camada), ellas son las únicas que alimentan y cuidan a las crías, además de mantener la temperatura y la humedad relativa estable (Kwon et. al., 2006; Goulson, 2010). Como consecuencia el desarrollo es lento durante las primeras semanas, sin embargo, una vez que la colonia alcanza cierto número de individuos la reina se deslinda del cuidado de las crías para dedicarse casi exclusivamente al ovoposición. Como resultado la cantidad de huevos aumenta y es por eso que en las gráficas vemos un cambio drástico a partir de 30-50 obreras (Alford 1975; Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas 2003) número importante ya que coincide con el movimiento de las colonias a invernadero para iniciar la polinización de cultivos (Torres, 2005). Posteriormente la colonia sigue creciendo con el tiempo hasta alcanzar un punto máximo en el que se detiene. Este tipo de crecimiento es conocido entre los experimentos de crianza de abejorros (Lavery y Plowright 1985; Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas 2003; Salvarrey, 2012).

Las gráficas 2, 4 y 6 de natalidad de obreras de los tres estudios realizados en ECOSUR difieren entre sí por el número de semanas en el que las colonias alcanzan 50 obreras, el número máximo de obreras y el número máximo de pupas. A continuación voy a tratar cada una de estas diferencias.

Número de semanas en el que las colonias alcanzan 50 obreras

Elegí el número de semanas en el que las colonias alcanzan 50 obreras porque cuando las colonias cuentan con este número son trasladadas a los invernaderos para polinizar, es decir, que son colonias listas para ser manejadas por los productores (Torres, 2005). En el experimento 1 el 50% (10 de 20) de las colonias alcanzan más de 50 obreras entre la 6 y 8 semana, crecimiento que coincide con los experimentos realizados por Lavery y Plowright en 1985, donde 6 colonias de *B. ephippiatus* alcanzaron 50 obreras en la semana 6 y Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas donde 27 colonias de la misma especie alcanzan 40 obreras en la semana 6.

Por otro lado en el experimento 2 (gráfica 4) las colonias alcanzan este número alrededor de la semana 12 y 15 y finalmente en el experimento 3, 1 colonia alcanza 50 obreras hasta la semana 17. Sin embargo, es importante resaltar que entre la semana 5 y 6 del experimento 3 (gráfica 6) había 3 colonias con 30 y 40 obreras respectivamente, número que coincide con el experimento 1 y el experimento de Laverty y Plowright en 1985 pero que a partir de la semana 7 se da un decremento importante en todas las colonias, probablemente debido a los cambios de temperatura y humedad dentro del cuarto de cría. Tema que abordaré más adelante.

Torres (2005) menciona en su trabajo que las colonias de *B. ephippiatus* tienen una esperanza de vida de 8 a 12 semanas donde después de este tiempo la población de la colonia empieza a decaer. En el caso de los experimentos 2 y 3 las colonias alcanzan 50 obreras mucho tiempo después del anteriormente descrito, por lo que es importante resaltar que las colonias pueden tener rangos más amplios de vida, además se trata de una especie tropical cuyas colonias pueden estar activas durante todo el año (Chavarría-Villaseñor, G., 1996).

El número máximo de obreras

Nuevamente en las gráficas únicamente se muestran los nidos de tres o más semanas de vida. Esto con la finalidad de que se observaran mejor los nidos en las gráficas.

En las gráficas de los experimentos 1 y 2 (gráficas 2 y 4) podemos apreciar como las colonias llegan a un punto máximo y a partir de ahí su población disminuye. Este punto es el número máximo de obreras que alcanza una colonia y normalmente coincide con el cambio de la etapa 4 a la etapa 5, es decir, la última etapa en el ciclo de vida de una colonia (la producción de reinas vírgenes y zánganos).

El promedio del número máximo de obreras es de 240,76 y el máximo de 350 (N=13) para el experimento 1, para el experimento 2 el promedio fue de 200 (N=2) y el máximo de 220 y no hubo para el experimento 3 ya que no se finalizó el ciclo de vida.

Laverty y Plowright reportan haber observado un nido en Costa Rica condiciones naturales cuyo un punto máximo fue de 888 obreras, mientras que Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003) reportaron nidos con más de 600 obreras (máximo de 691 obreras). Nuevamente las diferencias en las curvas de crecimiento y los puntos máximos del número de obreras pudieron deberse a diversos factores como la ubicación geográfica de las reinas, la humedad relativa, a la temperatura y al tipo de polen. Sin embargo, Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003) mencionan que el tamaño de la colonia depende de la altitud donde se localiza la especie ya que en altitudes de 2500 m.s.n.m. las colonias de *B. ephippiatus* alcanzan 400 individuos mientras que en altitudes menores alcanzan un promedio de 150 obreras (Torres, 2005). En los experimentos realizados en ECOSUR (1,2 y 3) las reinas silvestres fueron capturadas en una altura de 2,200 m.s.n.m. y los promedios fueron de 240,76 y 200 para los experimentos 1 y 2. Ambos promedios se encuentran por debajo del esperado según Torres (2005) y puede deberse a que las reinas fueron capturadas en alturas menores a los 2500 m.s.n.m.

El número máximo de pupas

Igual que en las gráficas de obreras en las gráficas de pupas de los experimentos 1, 2 y 3 realizados en ECOSUR se observa que las colonias llegan a un punto máximo de formación de pupas y a partir de ahí su población disminuye. Mismo cambio que coincide con el cambio de la etapa 4 a la etapa 5.

El promedio del número máximo de pupas para las colonias que alcanzaron la etapa 5 es de 401,6 y el máximo de 880 (N=18) para el experimento 1, para el experimento 2 el promedio fue de 157 (N=2) y el máximo de 187 y no hubo para el experimento 3 ya que no se finalizó el ciclo de vida.

En la experiencia 1 (gráfica 3) hay tres colonias (colonias 6,4 y 46) que alcanzan puntos máximos de 880, 847 y 770 pupas. Su diferencia con respecto al promedio es de 478,3, 445,3 y 368,3 respectivamente. Ahora bien, si comparamos estas colonias con sus curvas de natalidad de obreras en la figura 1 (gráfica 2) sería esperado que también sobresalieran del promedio, sin embargo sus puntos máximos no pasan de 350 obreras. Es interesante remarcar que hay una baja en la natalidad de obreras poco antes del punto máximo de pupas, lo quiere decir que mueren muchas obreras y al no ser sustituidas, las curvas de formación de pupas caen por completo poco tiempo después. Finalmente las colonias mueren y las pupas formadas mueren también. Este comportamiento puede deberse a diversos factores, sin embargo, el hecho de que no hubiera obreras que calentarán las pupas pudo haber sido un factor determinante en la muerte de las mismas (Alford 1975; Velthuis, 2006; Goulson, 2010).

Es importante decir que los conteos de pupas no siempre fueron exactos, ya que hay muchas pupas que no se observan o simplemente no es tan clara su diferenciación dentro del montículo de cría. Este montículo de cría es un conjunto de huevos puesto por la reinas sobre el nido. Conforme pasa el tiempo los huevos comienzan a diferenciarse en pupas (Goulson, 2010) formando una estructura parecida a un racimo de uvas. Muchas veces hay pupas no visibles dentro de esta estructura y eso hace que los conteos de pupas sean menos precisos que los de las obreras.

¿Por qué las diferencias?

A continuación analizaremos posibles razones que expliquen las diferencias observadas en las gráficas de natalidad de obreras y formación de pupas entre los experimentos de ECOSUR y fuera (Lavery, T. M y R. C. Plowright, 1985; Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas, 2003).

Colonias activas durante todo el año

La mayoría de los abejorros tienen ciclos de vida anuales, sin embargo, una característica destacable de *B. ephippiatus* es que se trata de una especie neotropical por lo que su ciclo de vida no se limita a ser anual (Lavery, T. M y R. C. Plowright, 1985). Como consecuencia las colonias de *B. ephippiatus* pueden vivir más de un año y ser activas durante todo el año (Chavarría-Villaseñor, G., 1996). Esta característica influye en el tiempo de muestreo de las reinas silvestres, ya que según Lavery y Plowright (1985) la formación de colonias de esta especie puede estar sincronizada con el inicio de la temporada de secas.

¿En qué estado vienen las reinas?

60Anteriormente se mencionó que las colonias de *B. ephippiatus* pueden ser activas durante todo el año (Lavery, T. M y R. C. Plowright, 1985) por lo que las reinas capturadas pueden estar en diferentes estados de su ciclo de vida, ya sea recién nacidas, recién apareadas o que recientemente hayan construido un nido.

Tiempo y lugar de muestreo

Las diferencias en las gráficas de conteo de pupas y obreras pudieron deberse a los tiempos de muestreo, ya que en el estudio 1, 67 reinas se colectaron durante los meses de junio y julio, y dos reinas durante agosto y septiembre del 2014. En el experimento 2 las reinas se colectaron durante los meses de abril y mayo del 2015 y en el experimento 3 durante el mes de octubre 2015.

Las reinas del experimento 1 se colectaron en San Cristóbal de Las Casas (16.732314, -92.661861), el antiguo aeropuerto de San Cristóbal de Las Casas (16.699735, -92.542705) y en Oxchuc (16.79063, -92.34525) mientras que las de los experimentos 1 y 2 fueron colectadas en diferentes alturas.

Tipo de polen suministrado

Por otro lado el tipo de polen pudo también haber influido en las gráficas de natalidad de obreras ya que como es descrito por Frison en 1927 la cantidad y el tipo de polen pueden ser factores determinante para la fundación y el éxito de un nuevo nido, ya que las larvas dependen fuertemente de la cantidad de proteína suministrada, especialmente durante los primeros días de vida.

Temperatura y humedad

Las razones previamente mencionadas son meras hipótesis ya que ninguna medida fue tomada con respecto a estas. Sin embargo, la temperatura y la humedad, factores ligados a la cría de *Bombus* sí fueron medidos en este experimento por lo que corrimos modelos lineares para ver la importancia de ambos factores en la cría de *B. ephippiatus*.

7.2 Efectos de la humedad relativa y la temperatura en el desarrollo de las colonias de *B. ephippiatus*.

Experimento 1.

Del 5 de noviembre al 14 de diciembre del 2015 (7 semanas) hubo una baja constante de la temperatura y de la humedad donde pasaron de 28 °C a 23 °C y de 55 % a 50.8 % respectivamente. (gráficas 8 y 9).

Con la intención de evaluar el efecto de la temperatura y la humedad en las gráficas de conteo se aplicaron correlaciones de la humedad y la temperatura contra el número de obreras y pupas durante estas 7 semanas (tabla 3 y 4). Elegimos este rango de tiempo porque fue a partir de esa semana que las líneas de crecimiento disminuyeron. Durante estos días la mayoría de las colonias vivas se encontraban entre la cuarta y quinta fase de desarrollo y la baja fue constante para ambos factores, números que facilitaron observar si hay una correlación. A continuación se muestran las correlaciones de humedad relativa y temperatura contra promedio en el número de pupas y obreras para todas las colonias en desarrollo.

La tabla 3 muestra correlaciones altas entre la humedad relativa y la temperatura con el número de huevos. Esto quiere decir que el promedio general de pupas baja de manera constante junto con la humedad relativa y la temperatura. Por otro lado el promedio de obreras presenta una correlación positiva mucho menor.

Esto nos dice que la temperatura y la humedad tienen un efecto más fuerte sobre el promedio de pupas que el de las obreras. Esto tiene una explicación biológica y es que las pupas dependen fuertemente de las obreras para regular su temperatura (Goulson, 2010).

Con el fin de ver que tanto son afectadas las pupas y las obreras por ambos factores durante las semanas del 5 de noviembre al 14 de diciembre del 2015, se utilizaron modelos lineales (Tabla 4) para ver que porcentaje de las variables promedio general de pupas y obreras es afectado por el cambio en la humedad relativa y la temperatura.

Experimento 3.

Del 16 de diciembre del 2015 al 6 de enero del 2016 (4 semanas) hubo una baja constante de la temperatura y de la humedad donde pasaron de 28 °C a 26.5 °C y de 60 % a 52.6 % respectivamente (gráficas 12 y 13).

Con la intención de evaluar el efecto de la temperatura y la humedad en las gráficas de conteo se sometieron correlaciones de la humedad y la temperatura contra el número de obreras y pupas durante estas 4 semanas (tabla 5 y 6). Elegimos este rango de tiempo porque fue a partir de esa semana que las

líneas de crecimiento disminuyeron y además durante estos días todas las colonias vivas se encontraban entre la segunda y tercera fase de desarrollo (1-15 obreras) finalmente la baja fue constante para ambos factores, número que facilita observar si hay una correlación.

La tabla 5 muestra una correlación alta positiva entre la humedad relativa y la temperatura con el número de huevos y obreras, sin embargo la de obreras es negativa. Estos datos nos indican que el promedio general de pupas baja de manera constante junto con la humedad relativa y la temperatura. Por otro lado, el promedio de obreras sube con la baja constante de la humedad relativa y la temperatura. Esto puede explicarse porque durante estas etapas las colonias aún no tenían muchas obreras por lo que la variación es muy pequeña (5-12 obreras) y como explicado anteriormente, las obreras son menos afectadas por su capacidad de regular su propia temperatura (Goulson, 2010). Nuevamente se corrobora que la temperatura y la humedad tienen un efecto más fuerte sobre el promedio de pupas que el de las obreras.

Con el fin de ver que tanto son afectadas las pupas y las obreras por ambos factores, se utilizaron modelos lineales para ver que porcentaje de las variables promedio general de pupas y obreras es afectado por el cambio en la humedad relativa y la temperatura durante las semanas del 16 de diciembre del 2015 al 6 de enero del 2016 (tablas 4 y 6).

Los modelos indican algo importante. Hay un efecto significativo de la temperatura con respecto a la variación del promedio de pupas del experimento 1 durante las semanas 22-28 (Modelo 1a, $p=0.006$) (Gráficas 8 y 9) y lo mismo en el experimento 3 durante las semanas 7-10 (Modelo 1b, $p=0,05$) (Gráficas 12 y 13).

Durante este rango de tiempo la baja constante de la temperatura explica el mayor porcentaje de la variación del promedio del número de pupas. Por otro lado la humedad relativa no tuvo un efecto significativo sobre el promedio del número de pupas en el experimento 1 ($p=0,1652$) ni en el experimento 2 ($p=0,06$). Es importante remarcar que no descartamos un efecto significativo de la humedad relativa sobre el número de pupas sino que nuestros resultados indican que el efecto no es inmediato durante las semanas que se analizaron. En cuanto al promedio general de obreras ninguna de las condiciones tuvo un efecto significativo en la variación de esta variable en ninguno de los dos experimentos.

Tanto en el experimento 1 (tabla 4) como en el experimento 2 (tabla 6) los modelos nos indican que las pupas son más afectadas que las obreras por los cambios de temperatura. Una de las explicaciones biológicas para este resultado es que las obreras son adultos y pueden regular de mejor manera su propia temperatura (Goulson, 2010). Sin embargo, las etapas de larva y pupa son totalmente dependientes del cuidado de la reina y de las obreras por su capacidad de suministrar alimento y calentar las celdas al presionar sus cuerpos contra las mismas (Goulson, 2010). Como consecuencia se trata de una etapa altamente vulnerable ante cambios en las condiciones ambientales, en este caso, la temperatura (Williams et. al., 2014).

La variable temperatura tiene efectos negativos inmediatos en el desarrollo adecuado de las pupas. Esto resalta la importancia de la temperatura como condición clave para la cría de abejorros en cautiverio.

La disminución de obreras y pupas ocurrió durante diferentes tiempos en los experimentos 1 y 3 (gráficas 8 y 12). En el experimento 1 ocurrió cuando la mayoría de las colonias tenían más de 50 obreras (fase de desarrollo avanzada) mientras que en el experimento 3 ninguna de las colonias tenía más de 50 obreras (primeras fases de desarrollo). Esta diferencia es muy importante ya que las colonias del experimento 3 tenían a penas 3 semanas de vida y muy pocas obreras. Es importante remarcar que después de la disminución de pupas del experimento 3 (gráficas 12), las colonias tardaron 6 semanas en iniciar nuevamente el crecimiento, mientras que en el experimento 1 (gráfica 8) tardaron la mitad del tiempo (3 semanas).

Las colonias del experimento 1 se recuperaron más rápido posiblemente por que había un mayor número de obreras. Se sabe que conforme la población de la colonia aumenta, hay más obreras que colaboran y son capaces de mantener mejor las condiciones adecuadas como los cambios drásticos en la temperatura y la humedad (Kwon et. al., 2006; Williams et. al., 2014).

Por otro lado, las colonias del experimento 3 se encontraban en las primeras semanas de vida, tiempo que representa un elemento clave en la cría de abejorros por su alta vulnerabilidad ante cambios drásticos en el clima y escasez de alimento (Kwon et. al., 2006; Williams et. al., 2014). Los tiempos para crear la primer, segunda y tercera camada de abejorros están relacionados al número de obreras que ayudan a la reina. Kwon et. al. (2006) observó que un mayor número de obreras al inicio de la colonia promueve el desarrollo temprano óptimo de la misma. Esto se debía a dos opciones: La reina ponía una mayor cantidad de huevos cuando tenía más ayudantes o todos los huevos puestos sobrevivían y terminaban su desarrollo gracias a la alimentación de un mayor número de obreras. Por lo tanto, si los huevos son afectados y no sobreviven entonces el crecimiento de la colonia se ve afectado como lo sucedido en el experimento 1 que el crecimiento se detiene por 6 semanas.

Llorente Torres (2005) resalta la importancia de mantener las condiciones del nido en estado natural al mantener las colonias de *B. ephippiatus* en 30 C con una humedad del 60%. Finalmente, una de las recomendaciones para mantener las condiciones estables dentro de un cuarto de cría son: Utilizar un calentador eléctrico con un regulador de temperatura, un humidificador con un regulador de humedad y de ser posible recubrir el cuarto con material aislante para evitar los cambios drásticos de temperatura y humedad a lo largo de todo el desarrollo de las colonias de *B. ephippiatus*, especialmente durante las primeras fases de crecimiento.

7.3 Similaridades y diferencias en los tiempos de fundación de nido de reinas de *B. ephippiatus*. Relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas.

Las gráficas (gráficas 14, 15 y 16) de los experimentos realizados en ECOSUR difieren en ciertas particularidades. De 1-5 días después de haber sido introducidas a las cajas de inicio, el 1% de las reinas funda un nido en los experimentos 1 y 3. Tiempo relativamente rápido comparado con otras reinas. De 6-10 días después, el 17% de las reinas del experimento 3 funda su nido. Es importante remarcar que se trata de un tiempo rápido contrastado con los experimentos 2 y 3 donde solo el 1% de las reinas del experimento 3 fundó su nido en este transcurso y ninguna del experimento 2. De 11-15 días después el 24% de las reinas fundó su nido en el experimento 3, el 13% en el experimento 2 y el 14% en el experimento 3. Fue durante esta etapa que la mayoría de las reinas de los experimentos 1 y 3 fundaron sus nidos. De 16-20 días después el 6% de las reinas de el experimento 3 fundó su nido, el 9% del experimento 3 y ninguna del experimento 2. De 21-25 días después el 4% de las reinas del experimento 3 fundó su nido, ninguna del experimento 3 y 25% del experimento 2. Finalmente las reinas que tardaron más de 26 días en fundar su nido fueron 4% en el experimento 3, 10% en el experimento 3 y 38% en el experimento 2.

Es interesante notar que Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas 2003 reportan que el promedio de días que tardaron las reinas de *B. ephippiatus* para ovopositar después de haber sido confinadas a las cajas de inicio fue de 29+-13 días (N=15), mientras que para reinas criadas en laboratorio fue de 20+-13 días (N=48). Nuestros promedios fueron de 13+-7 para el experimento 3 y de 23+-22 para el experimento 1. Se trata de resultados variables, sin embargo en el experimento 1 tiene el menor promedio de días para la fundación de nido con reinas silvestres. Nuevamente la variación en los resultados pueden deberse al tiempo de captura de las reinas, la región geográfica donde fueron capturadas y las condiciones de humedad relativa y temperatura del cuarto donde fueron colocadas las reinas.

7.3.1 Sobre la relación entre reinas rápidas y colonias grandes a las 6 semanas

Se encontró que el número de días que tardan las reinas en fundar un nido está negativamente relacionado al número de obreras a la seis semanas de desarrollo en los experimentos 1 ($R^2= 0.26$, $F = 4.7$, $P < 0.05$) (gráfica 17) y 3 ($R^2= 0.24$, $F = 5.7$, $P < 0.05$) (gráfica 18).

Esto quiere decir que las reinas que inician sus nidos más rápidos tienden a tener colonias más grandes a las 6 semanas. Elegimos el número de obreras a las 6 semanas como variable independiente porque a las 6 semanas las colonias están suficientemente desarrolladas y alcanzan un promedio de 30-50 obreras, número relevante por ser colonias listas para la polinización de cultivos comerciales. A pesar de que la relación no es tan fuerte, sí es un indicativo para hacer nuevos estudios con el fin de recrear este experimento y corroborar la relación.

Esta relación tiene importantes consecuencias en el manejo de reinas silvestres para la cría de *B. ephippiatus*. Si las primeras reinas en ovopositar tienen colonias más grandes que las reinas que

ovopositaron después, entonces se puede especular que aquellas que inicien un nido rápido van a ser mejores colonias para usarlas como polinizadoras ya que su desarrollo es más rápido y tienen más obreras para realizar el trabajo.

A partir de este análisis se sugiere que las reinas que no inicien sus nidos en los primeros 15 días sean descartadas del manejo y mejor sean liberadas en el lugar donde fueron colectadas. Esto con la finalidad mejorar la posibilidad de tener más colonias grandes a las 6 semanas de desarrollo y usarlas para la polinización de cultivos.

Ahora bien, la pregunta importante es por qué sucede esta relación. Fuentes Montemayor y Madrid Cuevas (2003) sugieren que uno de los factores que pueden influenciar en el número de individuos en determinado tiempo de desarrollo de la colonia se debe a la composición genética de la reina. Sin embargo también puede ser un factor influenciado por la condición física y fisiológica de la reina o incluso conductual. Si las reinas con colonias grandes en poco tiempo fueron mejor alimentadas o si se aparearon con más de un macho. Se trata de muchas preguntas a resolver para trabajos posteriores.

7.4 Evaluación de diferentes métodos de estimulación para la fundación de nido en reinas de *B. ephippiatus*

Para el experimento 3 (gráfica 19) se evaluaron 4 diferentes tratamientos (Obreras, control, polen y pupa) de estimulación de reinas fecundadas para que fundaran una colonia. Con el fin de conocer si algún tratamiento tenía un efecto significativo en el número de días que tardan las reinas silvestres en fundar un nido corrí un análisis de tipo ANOVA con los datos obtenidos del experimento 3. El ANOVA ($F = 0.948$, $P = 0.433$) indicó que los tratamientos no tienen un efecto significativo en el número de días que tardan las reinas en fundar un nido. Sin embargo el tratamiento obreras tuvo el menor promedio de días en la fundación del nido con 10,6 seguido del tratamiento polen, pupa y control con 13.8, 14.5 y 15,6 respectivamente.

El tratamiento pupas ha sido ampliamente estudiado (Duchateau, 1995, 2000; Duchateau et. al., 1994; Yeninar et al., 2000), sin embargo, los detalles de como utilizarlas y colocarlas con las reinas son escasos. En los experimento anteriores encontraron que el sexo, la edad de la pupa y su posición influyen fuertemente en el comportamiento de las reinas para iniciar un nido (Kwon y Saeed, 2003). El éxito de estimulación en reinas de *B. terrestris* ha sido mayor cuando se utilizan pupas de machos jóvenes (1-2 días) y congeladas (Kwon y Saeed, 2003). Por otro lado cuando las reinas eran provistas de pupas viejas de más de 9-11 días, el éxito de ovoposición era bajo y las reinas que sí lo hacían terminaban devorando sus huevos, comportamiento que pudo haber ocurrido en el experimento 3 ya que nunca se tomó en cuenta la edad de las pupas utilizadas. Además durante nuestro experimento se observo que las pupas se podrían, se volvían negras y muy probablemente promovían el desarrollo de bacterias y hongos.

Utilizar el tratamiento de pupas para el uso comercial es poco recomendable por tratarse de un método más laborioso que los otros. (Khon, 2003). Para la reproducción comercial, utilizar pupas es poco práctico, no sólo por tener que depender de colonias más avanzadas, sino porque es un trabajo más laborioso y cuando la pupa se desprende del cluster de la colonia madre, la cubierta de cera sobre la

larva es dañaba usualmente, resultando en la muerte de larvas y por consecuente su podredumbre (Khon, 2003). Esto ocasiona que la reina no acepte la pupa o se pudra alrededor del nido ocasionando la muerte de la reina o la no ovoposición de la misma.

Para trabajos posteriores se recomienda utilizar pupas jóvenes de machos y contar sus días de desarrollo.

Por otro lado, en cuanto al tratamiento del polen se observó que muchas veces el polen no era consumido por completo y se acumulaba formando plastas grandes que con el tiempo se echaban a perder, pudiendo afectar el comportamiento de la reina retrasando su capacidad de fundar un nido.

Pese a que el tratamiento de obreras no tuvo un efecto significativo, fue el que tuvo el menor promedio en el número de días que tardaron las reinas en fundar un nido. Este tratamiento también ha sido muy estudiado (Sladen 1912; Plath, 1923; Duchateau, 1991; Duchateau, 1991; Van den Eijnde et al., 1991; Kwon et. al., 2006) y se sabe que la comunicación entre obreras y reinas promueve la ovoposición de la reina nueva. Esto sucede porque las obreras cooperan con la reina como si se tratará de la reina de su colonia, es decir que ayudan en la incubación de los huevos una vez que estos son puestos. (Plath, 1923). La introducción de una o más obreras permite a la reina deslindarse de otras tareas para dedicar más tiempo a la ovoposición (Alford 1975).

Este método puede repetirse con la finalidad de corroborar si podría o no ser un método que estimulará a reinas silvestres de *B. ephippiatus* de manera significativa a iniciar un nido, con la recomendación de utilizar 1 o más obreras por tratamiento como en el estudio de Kwon et. al. (2006) donde encontró un mayor éxito de fundación de nido utilizando 4-6 obreras conspecíficas de *B. terrestris*.

Finalmente el tratamiento control tuvo el segundo promedio con el número de días para iniciar un nido y no tuvo diferencias significativas con los efectos de los otros tres tratamientos. Este resultado quiere decir que las reinas de *B. ephippiatus* fundan su nido sin importar el tratamiento utilizado.

Esto último tiene importantes repercusiones en la cría y el manejo de reinas silvestres capturadas ya que podría indicar que no es necesario gastar en tratamientos complejos como la demanda constante de polen, obreras o pupas de colonias conspecíficas. Evitando este esfuerzo, la cría de *B. ephippiatus* podría volverse más fácil, efectiva y económica.

8 Consideraciones finales para mejorar la técnica de cría de *Bombus ephippiatus* y evitar usar abejorros exóticos

1. Utilizar el tratamiento obreras.

Pese a que el efecto no resulta tan claro parece ser que dos obreras con un arena puede reducir 20 o 30 el tiempo de arranque del nido. a que en este trabajo el tratamiento obreras no resultó ser significativamente diferente a otros tratamientos sí fue el tratamiento que estimuló más rápidamente a las reinas a iniciar un nido. El promedio de días que tardaron las reinas sometidas a este tratamiento fue de 10.6. Esto quiere decir que podría indicar que la entrada de dos o más obreras promueven una mayor rapidez al iniciar el nido por la ayuda que aportan a las nuevas reinas.

2. Liberar reinas que no hagan sus nidos en los primeros 15 días.

La relación significativa entre tiempo y número de obreras a las 6 semanas en los experimentos 1 y 3 nos dice que las reinas que tardan menos de 15 días en iniciar un nido tienen mayores probabilidades a tener colonias grandes a las 6 semanas de desarrollo que reinas que tardan más de 15 días. Con el fin de evitar el gasto de dinero y espacio de criar colonias pequeñas en este trabajo recomendamos liberar a todas las reinas que no hayan empezado un nido antes de los 15 primeros días de confinamiento en las cajas de inicio.

3. Evitar bajas duraderas de humedad y temperatura (menos de 28 C)

La relación significativa en los experimentos 1 y 3 entre la temperatura y el número de pupas nos dice que cuando la temperatura es inferior a 28C durante 3 o más semanas las pupas son afectadas y mueren. Para evitar que estos cambios ocurran se recomienda utilizar un calentador y un humidificador con reguladores de temperatura y humedad.

4. Especial cuidado con colonias de menos de 50 obreras.

Las colonias pequeñas de menos de 50 obreras son más vulnerables ante cambios fuertes de temperatura y humedad relativa que las colonias grandes. Las obreras son quienes regulan la temperatura de las larvas y las pupas, conforme hay más obreras el nido puede soportar mejor los cambios drásticos de temperatura y humedad. Con colonias de menos de 50 obreras es muy importante cuidar que la humedad relativa y la temperatura se mantengan estables (60%, 28C).

5. Ofrecer polen siempre fresco y mantener higiene del cuarto de cría.

Es muy importante tener una fuente de polen de abeja (*Apis mellifera*) directa y cercana. El polen debe congelarse y ser suministrado de manera cuidadosa a las colonias de *Bombus ephippiatus*. Es importante no dar más de lo necesario ya que el polen puede acumularse y echarse a perder. Esto promueve la incidencia de bacterias y hongos repercutiendo en la salud de las colonias. Finalmente se debe tener mucho cuidado con la higiene del cuarto de cría y las cajas de inicio y desarrollo. Limpiarlas constantemente y tener todo muy seco para impedir el desarrollo de patógenos y parásitos de abejorros.

9 Literatura citada

- Alford, D.V. 1975. Bumblebees. Davis-Poynter. Reino Unido. 50-57.
- Arbetman, M. P., Meeus, I., Morales, C. L., Aizen, M. A., y G. Smagghe. 2012. Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biological Invasions* 15(3): 489–494.
- Barrow, D.A. y Pickard, R.S. 1985. Larval temperature in brood clumps of *Bombus pascuorum* (Scop.), *J. Apic. Res.* 24: 69–75.
- Brown, M. J. F., Loosli R. y Schmid–Hempel P. 2000. Condition-dependent expression of virulence in a trypanosome infecting bumblebees. *Oikos*. 91(3): 421–427.
- Brown, M. J. F., Schmid-Hempel, R. y Schmid-Hempel, P. 2003. Strong context-dependent virulence in a host-parasite system: reconciling genetic evidence with theory. *Journal of Animal Ecology* 72: 994-1002.
- Colla, S. R., Otterstatter, M. C., Gegear, R. J. y Thomson J., D. 2006. Plight of the bumble bees: Pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biological Conservation*. 129: 461-467.
- Bučánková, A. y Ptáček, V. 2012. A test of *B. terrestris* cocoon and other common methods for nest initiation in *B. lapidarius* and *B. hortorum*. *J. of Apic. Sci.* 56: 37-48.
- Cameron, S.A. 1985. Brood care by male bumble bees, *Proc. Natl Acad. Sci.* 82: 6371–6373.
- Cameron, S. A. Lozier, J. D., Strange, J. P., Koch, J. B., Cordes, N., Solter, L. F., Griswold T. L. .2011. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *PNAS*. 108: 662-667.
- Cameron, S. A., Lim H. C., Lozier, J. D., Duennes, M. A. y Thorp, R. T. 2016. A test of the invasive pathogen hypothesis of bumble bee decline in North America. *PNAS*, doi: 10.1073/pnas.1525266113.
- Cankaya N. E. y Kaftanoglu O. 2006. An investigation on some diseases and parasites of bumblebee queens (*B. terrestris* L.) in Turkey. *Pak J Biol Sci.* 9 (7):1282–1286.
- Chavarría-Villaseñor, G., 1996. Systematics and Behavior of the Neotropical Bumble Bees (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*). Ph. D. Thesis. Department of Organismic and Evolutionary Biology. Harvard University, Cambridge, Massachusetts, U.S.A.
- De Oliveira, M., Cavalcante, M. y Freitas, B. 2015. Nesting Behavior and Colony Description of the Neotropical *Bombus* (*Thoracobombus*) *brevivillus* in Northeastern Brazil. *Journal of Insect Behavior*. 28 (3): 297–302.
- Delaplane, K. S., 1996. Bumble Beekeeping: Handling Mature Colonies, Matting Queens. *American Bee Journal* 136 (2): 105-106.

- Dicks, L. V., Showler, A. D. y Sutherland J. W. 2010. Bee Conservation, Evidence for the effects of interventions. pelagic Publishing. Reino Unido. 78. 111-112.
- Duchateau, M.J. 1985. Analysis of some methods for rearing bumblebee colonies. *Apidologie*. 16: 225–227.
- Duchateau, M.J. 1991. Regulation of colony development in bumblebees. Proc.6th. Int. Symp.Poll. *Acta Horticulturae*. 288: 139-143.
- Duchateau, M.J. 1995. Sexual biology of haploid and diploid males in the bumble bee *B. terrestris*, *Insectes Soc.* 42: 255–266.
- Duchateau, M.J. 2000. Biological aspects of rearing bumble bees for pollination, in: Sommeijer M.J., de Ruijter A. (Eds.), *Insect pollination in greenhouse*, Royal Library, Den Haag. 25–29.
- Duchateau, M.J., Hoshiba, H. y Velthuis H.H.W. 1994. Diploid males in bumble bee *B. terrestris*, *Entomol. Exp. Appl.* 71: 263–269.
- Duennes, M. A., Lozier, J. D. y Hines, H. M., Cameron, S. A. 2012. Geographical patterns of genetic divergence in the widespread Mesoamerican bumble bee *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 64: 219-31.
- Durrer, S. y Schmid-Hempel, P. 1994. Shared use of flowers leads to horizontal pathogen transmission. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B.* 258: 299–302.
- Evans, E., Burns, I. y Spivak, M. 2007. *Befriending Bumble Bees. A practical guide raising local bumble bees*. University of Minnesota Extension. Minnesota, Estados Unidos.
- Flanders, R. V., Wehling W. F., y Craghead A. L.. 2003. Laws and regulations on the import, movement and release of bees in the United States. *Thomas Say Publications in Entomology*. Estados Unidos. 99-111.
- Frison, T.H. 1927. Experiments in rearing colonies of bumble bees (Bremidae) in artificial nests. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole*. 52: 51–67.
- Fuentes Montemayor, E. y Madrid Cuevas, A. 2003. *Biología de B. ephippiatus Say (Hymenoptera, Apidae)*. Tesis Licenciatura. Biología con área en Ecología. Departamento de Química y Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. Diciembre. México.
- Inoue, M. N. Yokoyama, J. y Washitani, I. 2008. Displacement of Japanese native bumble bees by the recent introduced *B. terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*. 12: 135-146.
- Ings, T.C., Ward, N.L. y Chittka, L. 2006. Can commercially imported bumblebees out-compete their native conspecific. *Journal of Applied Ecology*. 43: 940-948.

- Gamboa, G.J., Foster, R.L. y Richards, K.W. 1987. Intraspecific nest and brood recognition by queens of the bumble bee, *Bombus occidentalis* (Hymenoptera: Apidae). *Can. J. Zool.* 65: 2893–2897.
- Gallot-Lavallée, M., Schmid-Hempel, R., Vandame R., Vergara, C. H. y Schmid-Hempel, P. 2016. Large scale patterns of abundance and distribution of parasites in Mexican bumblebees. *Journal of Invertebrate Pathology.* 133: 73–82.
- Goulson, D. 2010. *Bumblebees: Their Behaviour and Ecology.* Oxford University Press. Estados Unidos.
- Gretenkord, C. y Drescher, W. 1997. Successful colony foundation and development of experimentally hibernated *B. terrestris* queens depending on different starting methods. *Acta Hort.* 437: 271–276.
- Griffin, R.P., Macfarlane, R.P. y van den Ende H.J. 1991. Rearing and domestication of long tongued bumblebees in New Zeland. *Acta Hort.* 288: 149-153.
- Gurel, F. y Gosterit, A. 2009. The suitability of native *B. terrestris dalmatinus* (Hymenoptera: Apidae) queen for mass rearing. *Journal of Apicultural Science.* 53: 67-73.
- Hannan, A., Maeta, Y. y Hoshikawa, K. 1997. Colony development of two species of Japanese bumblebees *Bombus (Bombus) ignitus* and *Bombus (Bombus) hypocrita* reared under artificial condition condition (Hymenoptera, Apidae) *Entomology.* 65: 343–354.
- Heinrich, B. 1972. Physiology of brood incubation in the bumblebee queen, *Bombus vosnesenskii*. *Nature.* 239: 223–225.
- Heinrich, B. 1974. Pheromone induced brooding behaviour in *Bombus vosnesenskii* and *B. edwardsii* (Hymenoptera: Bombidae), *J. Kansas Entomol. Soc.* 47: 396–404.
- Heinrich, B. 2004. *Bumblebee Economics.* Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos. 20-23.
- Horber, E. 1961. Beitrag zur Domestikation der Hummeln, *Vjschr. naturf. Ges. Zürich* 106: 424–447.
- Jie, W., Wenjun, P., Jiandong, A., Zhanbao, G., Yueming T. y Jilian, L. 2005. Techniques for year-round rearing of *B. terrestris* L. (Hymenoptera, Apoidea) in China. *Journal of Apicultural Science.* 49: 65-69.
- Kambe, Y., Okada, I., Yoneda, M., Goka, K., y Tsuchida, K. 2008. Interspecific mating of the introduced bumblebee *B. terrestris* and the native Japanese bumblebee *Bombus hypocrita sapporoensis* results in inviable hybrids. *Naturwissenschaften,* 95: 1003–8.
- Kwon, Y.J. y Saeed, S. 2003. Effect of temperature on the foraging activity of *B. terrestris* L.

- (Hymenoptera: Apidae) on greenhouse hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Appl. Entomol. Zool.* 38: 275–280.
- Kwon, Y.J., Than, K.K. y Suh, S. J. 2006. New method to stimulate the onset of *B. terrestris* (Hymenoptera: Apidae) rearing: using worker helpers in the presence of frozen pupae. *Entomol. Res.* 36: 202–207.
- Labougle, J. M. 1990. *Bombus* of Mexico and Central America (Hymenoptera: Apidae). *University of Kansas Science Bulletin.* 54: 35-73.
- Laverty, T. M y Plowright, R. C. 1985. Comparative bionomics of temperate and tropical bumble bees with special reference to *B. ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). *The Canadian Entomologist* 117: 467 - 474.
- Llorente Torres, M. D. 2005. Biología y métodos de cría de *B. ephippiatus* Say. Tesis Licenciatura. Biología. Departamento de Química y Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla, México.
- Mader, E., Shepherd, M., Vaughan, M., y Black S. en colaboración con Gretchen LeBuhn. 2011. Attracting Native Pollinators: Protecting North America's Bees and Butterflies. Storey Publishing, North Adams. Estados Unidos. 10-11.
- Manley, R., Boots, M. y Wilfert, L. 2015. Emerging viral disease risk to pollinating insects: ecological, evolutionary and anthropogenic factors. *J Appl Ecol.* 52: 331–340.
- Meeus, I., Brown, M.J.F., De Graaf, D.C. y Smagghe, G. 2011. Effects of invasive parasites on bumble bee declines. *Conserv Biol.* 25(4): 662–671.
- Michener, C. D. y Laberge W. E. 1954. A Large *Bombus* Nest from Mexico. *Psyche: A Journal of Entomology.* 61:63-66.
- Michener, C.D. 1974. The Social behavior of Bees. A comparative study. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Morales, C.L., M.P Arbetman, S.A. Cameron, and M.A. Aizen. 2013. Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Front. Ecol. Environ.* 11(10): 529-534.
- Ono, M. y T. Wada. 1996. The World of the Bumblebee. Japan Association for Plant Protection. Japón. 132.
- Otterstatter, M. C. y Thomson, J. D. 2008. Does pathogen spillover from commercially reared bumble bees threaten wild pollinators? *Plos One.* 3 article e2771.
- Plath, O.E. 1923. Breeding experiments with confined *Bremus* (*Bombus*) queens. *Biological Bulletin.* 45: 325-341.

- Plischuk, S. y Lange, C. E. 2009. Invasive *B. terrestris* (Hymenoptera: Apidae) Parasitized by a flagellate (Euglenozoa: Kinetoplastea) and a neogregarine (Apicomplexa: Neogregarinorida). *Journal of Invertebrate Pathology*.102: 261-263.
- Plischuk, S., Meeus I., Smagghe, G. y Lange, C. E. (2011) *Apicystis bombi* (Apicomplexa: Neogregarinorida) parasitizing *Apis mellifera* and *B. terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Argentina. *Environ Microbiol Rep* 3(5):565–568
- Plowright, R.C. y Jay, S.C. 1966. Rearing bumble bee colonies in captivity. *J. Apic. Res.* 5. 155–165.
- Přidal, A. y Hofbauer, J. 1998. Activation of laboratory-reared bumblebee queens (Hymenoptera: Apidae, *Bombus* spp.). *Actauniv. agric. et silvic. Mendel. Brun.* 46: 79-84.
- Ptacek, V. y Drobna, J. 2006. Cría y uso de los abejorros para la polinización de los recursos genéticos de legumbres forrajeras. En: Segundas Jornadas de Polinización en Plantas Hortícolas. Ed.: CIFA La Majonera- La Cañada IFAPA. La Majonera (Almería), España. 124-138.
- Röseler, P. F. 1985. A technique for year-round rearing of *B. terrestris* (Apidae, Bombini) colonies in captivity. *Apidologie*. 16. 165–170.
- Röseler, P. F. 1977. Rearing bumblebee colonies, Proc. 8th Int. Congr. IUSI, Wageningen. Estados Unidos. 312.
- Rutrecht, S. T. y Brown M. J. F. 2008. The life-history impact and implications of multiple parasites for bumble bee queens. *Int J Parasitol.* 38 (7):799–808.
- Salvarrey, S., Natalia A., Estela, S., y Cirto, I. 2013. (Hymenoptera, Apidae) Artificial Breeding of Native Bumblebees *Bombus atratus* y *Bombus bellicosus* (Hymenoptera, Apidae). *Agrociencia Uruguay*. 17. 75-82.
- Salvarrey, S. 2012. Utilización de los abejorros nativos *Bombus atratus* Franklin y *Bombus bellicosus* Smith para mejorar la producción de semillas del trébol rojo (*Trifolium pratense*). Tesis para la obtención del título. Magíster en Ciencias Agrarias opción Ciencias Animales, Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo- Uruguay.
- Schmid-Hempel, P. 2001. On the evolutionary ecology of host– parasite interactions: addressing the question with regard to bumblebees and their parasites. *Naturwissenschaften*. 88: 147–158.
- Sladen, F.W.L.1912. The humble-bee, MacMillan. Reino Unido. 10-18.
- Stout, J. C. y Morales, C. L. 2009. Ecological impacts of invasive alien species on bees. *Apidologie*. 40. 388-409.

- Sutherland, T. D., Campbell, P. M., Weisman, S., Trueman, H. E., Sriskantha, A., Wolfgang, J. W. y Haritos, V. S. 2006. A highly divergent gene cluster in honey bees encodes a novel silk family. *Genome Res.* 16: 1414–1421.
- Szabo, N.D., Colla, S.R., Wagner, D.L., Gall, L.F. y Kerr, J.T. 2012. Do pathogen spillover, pesticide use, or habitat loss explain recent North American bumblebee declines? *Conservation Letters.* 5: 232–239.
- Van den Eijnde, J., de Ruijter, A. y van der Steen J. 1991. Methods for rearing *B. terrestris* continuously and the production of bumble bee colonies for pollination purposes. *Acta Hortic.* 288, 154–158.
- Velthuis H. W. 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.
- Vergara, C. H., y Fonseca-Buendía, P. 2012. Pollination of greenhouse tomatoes by the Mexican *B. ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae) . *J. Pol. Ecol.* 7: 27-30.
- Williams, P. H. y Osborne, J. L. 2009. Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie.* 40: 367–387
- Williams, P., Thorp, R., Richardson, L. y Colla, S. 2014. Bumble Bees of North America. Princeton University Press. Reino Unido. 7.
- Whittington, R., Winston, M.L., Tucker, C. y Parachnowitsch, A.L. 2004. Plant-species identity of pollen collected by bumblebees placed in greenhouses for tomato pollination. *Canadian Journal of Plant Science.* 84: 599–602.
- Yeninar H., Duchateau M.J., Kaftanoglu O. y Velthuis H. 2000. Colony developmental patterns in different local populations of the Turkish bumble bee, *B. terrestris dalmatinus*. *J. Apic. Res.* 39: 107–116.
- Yoon H. J., Kim S.E. y Kim Y.S. 2002. Temperature and humidity favorable for colony development of the indoor-reared bumblebee, *Bombus ignitus*. *Appl. Entomol. Zool.* 37: 419–423.

Anexos

Aquellas colonias que no hicieron nido fueron descartadas de los anexos.

Anexos: Conteo de pupas del experimento 3

Captura	Inicio nido	Num de col.	6-nov-15	11-nov-15	17-nov-15	25-nov-15	2-dic-15	9-dic-15	16-dic-15	23-dic-15	30-dic-15	6-ene-16	13-ene-16	20-ene-16	27-ene-16	2-feb-16	10-feb-16	17-feb-16
15-oct-15	5-nov-15	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16-oct-15	1-nov-15	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19-oct-15	30-oct-15	3	0	5	9	13	10	7	10	13	15	13	8	10	14	12	9	0
21-oct-15	1-nov-15	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21-oct-15	1-nov-15	9	1	1	1	1	4	7	10	13	10	7	4	0	0	0	0	0
21-oct-15	21-nov-15	12	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
21-oct-15	9-nov-15	14	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21-oct-15	3-nov-15	15	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28-oct-15	9-ene-16	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
21-oct-15	5-nov-15	20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21-oct-15	3-nov-15	23	1	6	11	13	14	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21-oct-15	13-nov-15	27	0	1	1	1	7	7	10	13	15	14	14	13	12	12	13	14
21-oct-15	5-nov-15	28	1	1	1	1	1	3	6	8	10	0	0	0	0	0	13	0
21-oct-15	1-nov-15	29	1	4	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21-oct-15	7-nov-15	31	0	1	1	1	1	1	4	5	11	7	5	0	0	0	0	0
22-oct-15	1-nov-15	35	1	1	6	10	13	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	7-nov-15	37	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	5-nov-15	38	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	30-oct-15	39	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28-oct-15	1-dic-15	40	0	0	0	0	1	1	1	5	7	7	8	9	11	0	0	0
22-oct-15	7-nov-15	43	0	1	1	1	10	3	8	2	4	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	3-nov-15	45	1	7	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	3-nov-15	49	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26-oct-15	3-nov-15	51	1	1	1	11	16	12	17	15	7	7	8	10	14	14	15	13
26-oct-15	3-nov-15	52	1	1	10	16	15	18	28	15	12	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	1-nov-15	53	1	1	1	8	11	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28-oct-15	1-nov-15	54	1	1	1	16	16	19	10	10	10	11	12	10	8	9	11	4
22-oct-15	27-nov-15	57	0	0	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	30-oct-15	59	1	1	2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	9-nov-15	61	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22-oct-15	3-nov-15	64	1	1	8	5	10	8	15	8	8	8	8	14	18	0	0	21
22-oct-15	3-nov-15	65	1	1	1	3	2	5	6	9	11	11	11	9	8	0	0	0
23-oct-15	3-nov-15	66	1	1	4	9	5	4	6	8	9	10	11	16	16	16	15	6
23-oct-15	1-nov-15	67	1	1	3	6	13	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	3-nov-15	68	1	6	3	12	20	17	19	11	11	15	17	13	9	15	18	16
23-oct-15	1-nov-15	69	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26-oct-15	5-nov-15	70	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	1-nov-15	71	1	6	4	10	14	8	17	15	12	14	15	14	16	17	15	18
23-oct-15	5-nov-15	72	1	0	7	7	8	10	5	6	8	5	3	3	0	0	0	0
23-oct-15	15-nov-15	73	0	0	1	1	1	3	19	12	5	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	3-nov-15	74	1	1	12	13	12	14	22	16	14	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	1-nov-15	75	1	8	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28-oct-15	3-nov-15	77	1	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	3-nov-15	78	1	1	1	5	7	4	8	15	17	14	8	10	11	12	13	13
23-oct-15	3-nov-15	80	1	1	6	14	12	8	4	4	3	2	2	0	0	0	0	0
23-oct-15	1-nov-15	81	1	1	1	14	11	12	4	10	19	19	20	19	17	20	22	22
23-oct-15	30-oct-15	82	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	30-oct-15	83	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	3-nov-15	86	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	3-nov-15	88	1	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	21-nov-15	89	0	0	0	1	1	1	1	4	4	0	0	0	0	0	0	0
23-oct-15	1-nov-15	90	1	5	6	11	3	12	21	18	11	0	0	0	0	0	0	0
26-oct-15	7-nov-15	92	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28-oct-15	9-nov-15	94	0	1	1	10	21	19	25	20	15	0	0	0	0	0	0	0
26-oct-15	5-nov-15	95	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26-oct-15	7-nov-15	96	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28-oct-15	3-nov-15	97	1	9	15	15	27	24	28	23	20	16	17	19	21	20	18	23
Prom. Semanal de Humedad Relativa			60,3	58,3	58,3	61,7	65,5	60,5	60,0	60,3	54,7	52,7	58,7	54,0	60,7	60,7	58,0	58,5
Prom. Semanal de Temperatura			28,0	28,0	28,3	28,0	28,0	27,3	28,0	27,7	27,7	28,3	27,7	28,3	28,7	28,3	28,3	28,8

Num de col.	24-feb-16	2-mar-16	9-mar-16	16-mar-16	23-mar-16	30-mar-16
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0
27	11	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0
49	0	0	0	0	0	0
51	13	0	0	0	0	0
52	0	0	0	0	0	0
53	0	0	0	0	0	0
54	4	0	0	0	0	0
57	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	0	0
61	0	0	0	0	0	0
64	15	0	0	0	0	0
65	0	0	0	0	0	0
66	0	0	0	0	0	0
67	0	0	0	0	0	0
68	24	29	27	25	21	29
69	0	0	0	0	0	0
70	0	0	0	0	0	0
71	38	42	43	60	62	77
72	0	0	0	0	0	0
73	0	0	0	0	0	0
74	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0
77	0	0	0	0	0	0
78	24	20	30	44	24	30
80	0	0	0	0	0	0
81	23	30	35	56	85	100
82	0	0	0	0	0	0
83	0	0	0	0	0	0
86	0	0	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	0
89	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0
92	0	0	0	0	0	0
94	0	0	0	0	0	0
95	0	0	0	0	0	0
96	0	0	0	0	0	0
97	27	32	35	44	34	36
	65,0	62,7	60,0	59,0	60,0	64,0
	29,3	29,3	29,5	29,7	29,5	29,0

Anexos: Conteo de obreras del experimento 3

Num de col.	2-dic-15	9-dic-15	16-dic-15	23-dic-15	30-dic-15	6-ene-16	13-ene-16	20-ene-16	27-ene-16	2-feb-16	10-feb-16	17-feb-16	24-feb-16	2-mar-16	9-mar-16	16-mar-16	23-mar-16	30-mar-16
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	3	7	6	6	6	7	8	7	7	6	5	3	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	3	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	1	2	2	2	3	4	4	4	6	0	0	0	0	0
28	0	0	0	3	5	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	1	0	0	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	0	5	7	7	7	4	3	3	4	6	8	7	0	0	0	0	0	0
52	1	7	9	17	22	24	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	2	4	15	18	21	19	17	15	20	22	24	6	2	0	0	0	0	0
57	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
64	0	2	3	12	17	17	18	18	12	0	0	5	7	0	0	0	0	0
65	0	0	1	1	2	2	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66	0	2	2	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
67	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	2	7	15	22	19	22	18	20	23	21	20	21	25	21	22	24	31	33
69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
71	3	7	5	11	25	30	25	20	22	24	25	22	21	24	35	40	50	70
72	1	1	1	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
73	0	0	1	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
74	0	8	6	22	33	36	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
78	0	1	6	5	4	2	6	7	7	5	4	9	10	11	10	12	6	16
80	0	0	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
81	0	1	5	6	8	7	9	11	15	16	21	13	15	20	32	34	31	39
82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90	3	3	3	5	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
94	0	5	11	15	22	24	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
97	1	7	8	12	11	11	12	12	15	16	17	0	14	16	23	19	25	28
Prom. H. R.	65,5	60,5	60,0	60,3	54,7	52,7	58,7	54,0	60,7	60,7	58,0	58,5	65,0	62,7	60,0	59,0	60,0	64,0
Prom. T.	28,0	27,3	28,0	27,7	27,7	28,3	27,7	28,3	28,7	28,3	28,3	28,8	29,3	29,3	29,5	29,7	29,5	29,0

Anexos: Conteo de pupas del experimento 2

Captura	Inicio nido	Num de col.	12-may-15	19-may-15	27-may-15	5-jun-15	12-jun-15	19-jun-15	26-jun-15	3-jul-15	10-jul-15	17-jul-15	24-jul-15	29-jul-15	7-ago-15	15-ago-15	21-ago-15	28-ago-15
15-abr-15	6-may-15	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15-abr-15	19-may-15	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27-abr-15	12-may-15	4	1	4	10	4	6	11	14	12	13	14	9	12	23	20	25	25
4-may-15	27-may-15	6	0	0	1	7	8	3	1	2	3	0	0	0	0	0	0	0
4-may-15	10-jun-15	7	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-may-15	5-jun-15	8	0	0	0	2	4	6	5	5	9	10	12	20	15	25	47	100
Prom. Semanal de Humedad Relativa			55,3	59,8	58,3	60,8	59,3	59,3	56,5	57,0	58,3	53,0	59,0	64,0	57,3	57,0	57,0	56,0
Prom. Semanal de Temperatura			27,7	26,8	27,7	26,8	26,5	26,0	26,8	26,0	28,7	28,3	28,3	28,5	29,0	29,0	28,5	28,3

Num de col.	4-sep-15	10-sep-15	17-sep-15	25-sep-15	2-oct-15	9-oct-15	16-oct-15	23-oct-15	30-oct-15	7-nov-15	14-nov-15	21-nov-15	28-nov-15	5-dic-15	12-dic-15	19-dic-15	26-dic-15	
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	28	87	84	95	116	127	110	105	45	63	80	48	36	29	20	7	0	
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	89	138	187	150	170	150	43	60	86	37	34	25	15	7	5	0	0	
Prom. H. R.		59,3	58,0	57,3	58,8	58,0	57,3	64,3	67,3	64,3	58,0	58,0	59,7	65,7	65,3	57,5	62,3	57,3
Prom. T.		28,0	27,7	27,0	28,0	28,0	28,0	28,3	28,7	28,0	28,3	28,0	28,0	27,7	27,5	28,0	27,3	

Anexos: Conteo de obreras del experimento 2

Num de col.	12-may-15	19-may-15	27-may-15	5-jun-15	12-jun-15	19-jun-15	26-jun-15	3-jul-15	10-jul-15	17-jul-15	24-jul-15	29-jul-15	7-ago-15	15-ago-15	21-ago-15	28-ago-15	4-sep-15	10-sep-15	
4	0	0	2	10	12	11	16	20	15	20	23	24	20	20	24	25	35	53	
6	0	0	0	0	0	4	5	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	0	0	0	0	0	4	4	3	4	6	6	10	12	21	25	28	38	58	
Prom. H. R.		55,3	59,8	58,3	60,8	59,3	59,3	56,5	57,0	58,3	53,0	59,0	64,0	57,3	57,0	57,0	56,0	59,3	58,0
Prom. T.		27,7	26,8	27,7	26,8	26,5	26,0	26,8	26,0	28,7	28,3	28,3	28,5	29,0	29,0	28,5	28,3	28,0	27,7

Num de col.	17-sep-15	25-sep-15	2-oct-15	9-oct-15	16-oct-15	23-oct-15	30-oct-15	7-nov-15	14-nov-15	21-nov-15	28-nov-15	5-dic-15	12-dic-15	19-dic-15	26-dic-15
4	60	91	102	160	160	180	130	114	135	130	100	70	32	5	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	64	97	120	200	210	220	190	195	200	150	135	98	54	13	10
Prom. H. R.		57,3	58,8	58,0	57,3	64,3	67,3	64,3	58,0	59,7	65,7	65,3	57,5	62,3	57,3
Prom. T.		27,0	28,0	28,0	28,0	28,0	28,3	28,7	28,0	28,3	28,0	27,7	27,5	28,0	27,3

Anexos: Conteo de pupas del experimento 1

Captura	Inicio nido	Num de col.	24-jun-14	29-jun-14	2-jul-14	8-jul-14	15-jul-14	21-jul-14	27-jul-14	3-ago-14	8-ago-14	13-ago-14	19-ago-14	25-ago-14	2-sep-14	10-sep-14	17-sep-14	24-sep-14
26-jun-14	14-jun-14	4	2	1	4	4	4	10	9	9	5	24	31	48	70	70	80	90
1-jul-14	14-jun-14	5	0	0	1	4	5	5	8	9	10	15	20	25	50	80	100	100
1-jul-14	14-jun-14	6	0	0	1	2	4	4	13	14	8	40	40	30	15	50	80	100
1-jul-14	14-jun-14	7	0	0	1	1	1	4	5	7	12	17	26	20	50	69	84	90
25-jun-14	14-jun-14	11	0	1	1	1	1	1	0	2	4	37	40	45	40	10	15	120
15-jul-14	29-jun-14	15	0	0	0	0	1	1	2	2	3	4	3	4	4	15	6	14
8-jul-14	29-jun-14	16	0	0	0	1	1	2	5	5	7	8	12	10	20	27	30	90
27-sep-14	29-jun-14	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
8-jul-14	29-jun-14	24	0	0	0	1	7	8	8	10	11	10	11	12	12	14	20	16
14-jul-14	2-jul-14	26	0	0	0	0	1	1	2	4	6	8	7	24	14	35	70	50
14-jul-14	2-jul-14	27	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	0	3	7	18	8	0
8-ago-14	2-jul-14	30	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	4	3	6	4	6	5
27-ago-14	2-jul-14	34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	4	8	14
20-jul-14	8-jul-14	39	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	3	4	8	8	10
20-jul-14	8-jul-14	45	0	0	0	0	0	2	2	4	4	6	2	3	10	27	70	102
21-jul-14	8-jul-14	48	0	0	0	0	0	1	1	2	2	3	2	3	5	7	5	7
8-ago-14	8-jul-14	51	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	4	0	0	0
27-sep-14	8-jul-14	54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-sep-14	19-ago-14	68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	5
25-sep-14	17-sep-14	69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Prom. Semanal de Humedad Relativa			61,0	60,4	59,7	59,5	70,0	67,8	66,7	67,7	70,0	69,0	62,8	61,0	60,8	65,0	61,3	59,7
Prom. Semanal de Temperatura			26,0	25,2	26,5	26,4	27,0	28,3	28,0	28,0	28,5	29,5	28,3	28,0	30,0	29,7	29,7	28,3

Num de col.	1-oct-14	8-oct-14	15-oct-14	22-oct-14	29-oct-14	5-nov-14	12-nov-14	19-nov-14	26-nov-14	2-dic-14	8-dic-14	13-dic-14	20-dic-14	27-dic-14	4-ene-15	12-ene-15	19-ene-15	28-ene-15
4	187	253	88	40	209	737	726	649	385	55	4	0	0	0	0	0	10	5
5	150	200	270	396	297	165	176	130	70	39	10	0	0	0	0	0	0	0
6	154	187	231	121	22	99	275	880	836	506	99	30	3	0	0	0	0	0
7	55	77	99	253	165	111	209	142	99	77	88	3	0	0	0	0	0	0
11	209	231	187	132	105	22	25	18	13	55	20	0	0	0	0	0	4	6
15	13	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	66	110	176	242	396	341	220	198	120	88	77	0	0	0	0	0	0	0
22	2	1	5	5	9	11	15	25	35	55	77	143	162	110	100	150	100	95
24	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	77	121	50	143	385	209	121	198	44	22	187	18	8	6	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	6	5	6	5	4	4	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
34	12	5	25	20	12	44	12	18	19	12	6	7	6	0	7	0	2	0
39	15	7	27	44	25	88	33	66	132	187	176	110	264	100	100	100	150	70
45	187	242	253	440	418	231	319	660	748	154	110	55	77	9	8	0	0	0
48	13	27	22	30	44	44	55	140	135	176	200	250	130	120	250	150	130	100
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	2	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	7	2	9	10	15	13	25	25	30	44	77	87	38	50	70	160	250	230
69	2	3	5	8	10	28	44	44	77	110	134	176	35	50	60	90	150	280
Prom. H. R.	58,2	54,4	58,8	60,0	57,2	55,3	52,8	53,8	52,3	52,5	51,8	50,8	54,0	53,8	53,8	58,3	54,7	61,0
Prom. T.	29,0	28,8	29,0	28,3	26,9	28,0	27,5	28,0	27,0	24,5	24,2	23,0	26,8	28,3	30,5	28,0	26,2	25,5

Num de col.	5-feb-15	11-feb-15	18-feb-15	25-feb-15	2-mar-15	9-mar-15	15-mar-15	23-mar-15	31-mar-15	8-abr-15	15-abr-15	21-abr-15	27-abr-15	4-may-15
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	4	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	56	30	29	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	40	35	24	15	6	5	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	80	50	30	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	150	120	100	80	120	120	90	30	35	0	0	0	0	0
69	250	180	150	150	160	150	100	40	30	0	0	0	0	0
Prom. H. R.	51,0	49,7	50,0	51,0	53,0	50,0	50,7	51,0	51,0	49,0	59,7	63,3	58,7	59,3
Prom. T.	26,3	25,7	27,2	26,5	27,0	27,5	27,7	27,9	28,9	29,5	24,0	24,7	24,7	27,5

Anexos: Conteo de obreras del experimento 1

Num de col.	24-jun-14	29-jun-14	2-jul-14	8-jul-14	15-jul-14	21-jul-14	27-jul-14	3-ago-14	8-ago-14	13-ago-14	19-ago-14	25-ago-14	2-sep-14	10-sep-14	17-sep-14	24-sep-14	1-oct-14	8-oct-14
4	0	0	0	0	0	2	1	4	4	4	2	5	5	11	17	15	28	50
5	0	0	0	0	0	1	3	5	8	15	15	20	18	60	80	80	60	15
6	0	0	0	0	0	1	7	12	12	20	20	30	50	60	60	80	160	170
7	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	4	10	19	40	40	45	60	70
11	0	0	0	0	0	0	0	1	8	10	16	40	50	60	80	120	90	110
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	4	8	8	10	12	9	12
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3	12	14	35	50	40	70
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	4	4	10	15	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	6	9	25	28	50	50	80
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	5	4	4	8	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	20	10
39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	3	10
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	3	3	8	21	40	60	110
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	2	5	5
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Prom. H. R.	61,0	60,4	59,7	59,5	70,0	67,8	66,7	67,7	70,0	69,0	62,8	61,0	60,8	65,0	61,3	59,7	58,2	54,4
Prom. T.	26,0	25,2	26,5	26,4	27,0	28,3	28,0	28,0	28,5	29,5	28,3	28,0	30,0	29,7	29,7	28,3	29,0	28,8

Num de col.	15-oct-14	22-oct-14	29-oct-14	5-nov-14	12-nov-14	19-nov-14	26-nov-14	2-dic-14	8-dic-14	13-dic-14	20-dic-14	27-dic-14	4-ene-15	12-ene-15	19-ene-15	28-ene-15	5-feb-15	11-feb-15
4	50	60	80	280	100	70	60	120	40	150	130	40	10	15	0	0	0	0
5	10	150	150	60	20	30	15	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	200	150	130	260	100	80	80	10	20	15	2	1	0	0	0	0	0	0
7	90	70	70	60	60	140	80	61	80	80	3	2	0	0	0	0	0	0
11	140	180	250	30	10	20	17	12	12	20	15	20	22	19	11	10	13	8
15	5	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	80	140	200	300	150	120	50	30	20	10	8	3	1	0	0	0	0	0
22	1	3	1	3	5	11	16	50	50	70	130	200	170	200	150	130	105	98
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	100	150	170	250	60	50	30	60	20	13	7	2	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	8	6	10	7
34	10	8	10	50	7	9	11	8	5	12	13	15	25	23	30	30	27	28
39	11	11	19	25	80	100	80	120	130	230	330	250	220	200	200	250	230	170
45	120	170	230	300	150	130	60	10	10	9	0	0	0	0	0	0	0	0
48	8	4	15	18	40	100	90	140	250	350	280	30	200	230	250	200	150	100
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	9	5	4
54	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	2	0	3	5	7	13	23	25	60	90	80	100	190	200	180	150	200	200
69	0	1	2	7	12	25	30	90	110	190	230	300	240	210	200	200	250	230
Prom. H. R.	58,8	60,0	57,2	55,3	52,8	53,8	52,3	52,5	51,8	50,8	54,0	53,8	53,8	58,3	54,7	61,0	51,0	49,7
Prom. T.	29,0	28,3	26,9	28,0	27,5	28,0	27,0	24,5	24,2	23,0	26,8	28,3	30,5	28,0	26,2	25,5	26,3	25,7

Num de col.	18-feb-15	25-feb-15	2-mar-15	9-mar-15	15-mar-15	23-mar-15	31-mar-15	8-abr-15	15-abr-15	21-abr-15	27-abr-15	4-may-15
4	0	0	0	10	15	5	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	8	7	6	5	4	3	2	2	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	76	43	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	7	9	6	4	6	4	4	3	2	0	0	0
34	27	20	14	8	10	1	4	3	0	0	0	0
39	120	60	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	54	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	1	3	3	8	10	9	3	2	0	2	2	1
54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	180	200	150	150	100	60	15	1	0	0	0	0
69	230	220	200	200	180	180	100	60	30	3	0	0
Prom. H. R.	50,0	51,0	53,0	50,0	50,7	51,0	51,0	49,0	59,7	63,3	58,7	59,3
Prom. T.	27,2	26,5	27,0	27,5	27,7	27,9	28,9	29,5	24,0	24,7	24,7	27,5