



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y

ZOOTECNIA

Evaluación del efecto de dos dietas en el desarrollo de microcolonias del abejorro *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae) y el uso reproductivo de los zánganos producidos.

TESIS

Que para obtener el título de
Médica Veterinaria Zootecnista

P R E S E N T A

Alejandra Martínez de Castro Dubernard

ASESORES

Dr. Rémy Vandame
MVZ. Adriana Correa Benítez
MVZ. Omar Argüello Nájera



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2019



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.

AGRADECIMIENTOS

A mis papás, Jorge y Monique, que son el pilar de todos mis logros. Gracias por tanto amor.

A mis hermanos Diego y Jimena, por acompañarme en esta vida y compartir toda clase de experiencias y emociones conmigo. Hoy celebro haber crecido junto a ustedes.

A Rémy, quien me ha brindado grandes oportunidades. Por compartir conmigo tus conocimientos, tu experiencia y tu inagotable pasión por las abejas.

A Omar, por enseñarme gran parte de lo que sé de abejorros y recibirme para trabajar contigo. Por la paciencia y el apoyo, muchas gracias.

A mi asesora y maestra Adriana Correa. Gracias por el apoyo, el cariño y las oportunidades. Siempre recordaré sus excelentes clases.

A mi patrón Edgar, por toda la ayuda tan necesaria en el cuarto de cría, tu sentido del humor y tus chistes que sin duda hicieron más ligera la carga de trabajo.

A Anna, por tus ganas de aprender, por tu amistad y por cuidar a los abejorros. Conserva siempre el amor tan grande que tienes a la ciencia y la naturaleza.

A Andrés por tus aportaciones en el cuarto de abejorros, el apoyo, la paciencia y la amistad que hemos formado, muchas gracias.

A Renata, por todo el apoyo que me ofreciste desde mi llegada a Chiapas. A veces no imaginamos cuanto estamos ofreciendo a los demás con acciones tan simples y cotidianas, pero impactan y dejan huella.

A Bethy, con quien formé una gran amistad. Por regalarme una sonrisa desde mi primer día en ECOSUR. Gracias por siempre estar.

Al taxónomo y gran amigo Jorge Mérida, agradezco tus consejos y tu amistad.

A Oscar por compartirme tus conocimientos y por el apoyo en este trabajo.

Al Equipo abejas de ECOSUR, Aprendo de cada uno de ustedes y admiro su trabajo. Gracias por dejarme ser parte de ustedes.

A Luz y Karla, por mostrarme que existen personas dispuestas a ofrecer incondicionalmente su amistad y apoyo.

A mi sabio amigo Sergio, quien siempre tiene algo bueno que decir. Admiro tu autenticidad y tu sentido del humor. Gracias por las risas, las idas al Naufragio y por cuidar a los abejorros de vez en cuando.

A Alejandrina, porque es invaluable el apoyo que recibí de tu parte. Infinitas gracias.

A mis amigos de la FMVZ, sin ustedes este camino no hubiera sido tan divertido.

A mi jurado, el Mtro. Alberto Balcázar, la Dra. Cristina Guerrero, la Dra. Laura Espinoza, y la MVZ. Angélica Gris, por sus aportaciones en este trabajo, por escucharme y leerme.

Agradezco a El Colegio de la Frontera Sur unidad San Cristóbal, por permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones.

A la FMVZ de la UNAM y los profesores que formaron parte en mis aprendizajes para la vida profesional.

DEDICATORIA

*A todos los animales que contribuyeron
con mi formación académica,
especialmente a los abejorros que
formaron parte de este estudio*

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES.....	3
Biología de los abejorros.....	3
Ciclo de vida del abejorro.....	4
Comercialización de abejorros.....	8
Riesgos e implicaciones del comercio de abejorros.....	9
Abejorro <i>Bombus ephippiatus</i>	11
Abejorro <i>Bombus ephippiatus</i> como polinizador.....	12
Cría y manejo de abejorros en cautiverio.....	13
Condiciones ambientales en el cuarto de cría.....	13
Alimentación.....	15
Reproducción.....	15
Microcolonias.....	16
JUSTIFICACIÓN.....	17
OBJETIVOS.....	17
HIPÓTESIS.....	18
RESULTADOS.....	23
DISCUSIÓN.....	36
CONCLUSIONES.....	41
ANEXOS.....	42
REFERENCIAS.....	46

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes castas del abejorro <i>Bombus ephippiatus</i>	4
Figura 2. Ciclo de vida del abejorro.....	7
Figura 3. Localización de El Colegio de la Frontera Sur, Unidad San Cristóbal.....	18
Figura 4. Caja de iniciación de abejorros.....	20
Figura 5. Jaula de vuelo.....	21
Gráfica 1. Comparación del promedio del polen consumido en microcolonias.....	23
Gráfica 2. Días para inicio de postura en microcolonias.....	24
Gráfica 3. Promedio de zánganos producidos en las microcolonias.....	26
Gráfica 4. A. Consumo de polen en las microcolonias B. Días para inicio de postura en las microcolonias.....	27
Gráfica 5. C. Días para eclosión del primer zángano en microcolonias. D. Promedio de zánganos producidos en las microcolonias.....	27
Gráfica 6. Descendencia de las reinas apareadas en la jaula de vuelo.....	28
Figura 6. Línea de tiempo en donde se muestran los días de edad en los que hubo apareamientos entre reinas y zánganos.....	29
Gráfica 7. Grupos de edades de las reinas que tuvieron una fecundación exitosa.....	30
Gráfica 8. Grupos de edades de los machos que fecundaron reinas.....	30
Gráfica 9. Tiempo de apareamiento de reinas y porcentaje de fecundación.....	31
Gráfica 10. Porcentajes de tratamientos de zánganos que fecundaron reinas.....	32
Figura 7. Calendario del ciclo productivo del abejorro <i>Bombus ephippiatus</i> en cautiverio...35	35

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. (sub-) especies de abejorros criados comercialmente para polinización de cultivos. Tomado y modificado de Velthuis y Van Doorn 2006 ⁽⁵⁾ .	8
Cuadro 2. Rangos óptimos de temperatura y humedad para diferentes especies de <i>Bombus sp.</i> Elaborada por Bullé-Bueno (2015) .	14
Cuadro 3. Tabla de contingencia de para el tratamiento de los machos y el éxito del acoplamiento	33
Cuadro 4. Evolución de las reinas a partir del apareamiento hasta la producción de sexuos (reinas y zánganos)	34

RESUMEN

MARTÍNEZ DE CASTRO DUBERNARD ALEJANDRA. Evaluación de dos dietas en el desarrollo de microcolonias del abejorro *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae) y el uso reproductivo de los zánganos producidos (bajo la dirección del Dr. Rémy Vandame, MVZ Adriana Correa Benítez y MVZ Omar Argüello Nájera).

En este trabajo se compararon un polen fresco, es decir, sin deshidratar, con un día de almacenamiento y otro con un año de almacenamiento en el desarrollo de microcolonias del abejorro mesoamericano *B. ephippiatus*, asimismo, se evaluó la el éxito de fecundación de los zánganos producidos en las mismas. Se evaluaron 21 microcolonias de cada tratamiento durante cuatro meses bajo condiciones controladas de temperatura (27°C), luz y humedad (60%). Se evaluó el desarrollo de microcolonias considerando como indicadores: el inicio de postura, el tiempo de eclosión de los zánganos y el total de zánganos producidos por tratamiento, así como el consumo de polen por microcolonia. Al finalizar el estudio, se encontró que las microcolonias alimentadas con polen de un día iniciaron postura casi tres días antes que las colonias alimentadas con polen que tuvo un año de almacenamiento. Las microcolonias alimentadas con polen de un día produjeron un 30% más zánganos que las alimentadas con polen de un año. El tiempo de eclosión de los zánganos no tuvo diferencias significativas. Los zánganos producidos se sacaron a apareamientos con reinas vírgenes nacidas en el cuarto de cría. El de éxito de los apareamientos fue de 9.5%. Además se registraron dos ciclos de reproducción en este abejorro.

Palabras clave: *Bombus ephippiatus*, microcolonias, polen, reproducción, apareamientos, polinizadores
manejados.

INTRODUCCIÓN

Los abejorros se utilizan para la polinización de cultivos en invernadero y en México el uso de la especie exótica *Bombus impatiens* comienza en el año 1994.⁽¹⁾ Actualmente se buscan estrategias para la crianza de abejorros nativos, ya que existen evidencias de invasión, competencia por recursos e introducción de enfermedades por parte de abejorros exóticos introducidos.

Hoy en día se cuenta con poca información con respecto a la crianza del abejorro nativo *Bombus ephippiatus*, sin embargo, el conocimiento de los factores que pueden afectar el desarrollo de colonias y la reproducción de esta especie es de relevante importancia para lograr el ciclo productivo completo, haciendo posible su cría controlada con calidad y en cantidad suficiente para su comercialización en el país para el reemplazo de especies exóticas.

En este marco, la presente investigación se refiere al tema de crianza de abejorros nativos, específicamente de la especie *Bombus ephippiatus*, en donde en primer lugar se comparan dos dietas en el desarrollo de microcolonias y posteriormente se evalúa la fase reproductiva utilizando reinas vírgenes nacidas en cautiverio y a los zánganos alimentados con las dietas experimentales provenientes de las microcolonias. En este trabajo se logró completar su ciclo en cautiverio, y se recopila información valiosa para su crianza.

ANTECEDENTES

Biología de los abejorros

Los abejorros son insectos que pertenecen a la tribu Bombini, uno de los tres principales grupos de abejas eusociales, grupo dentro del cual se encuentran también la tribu Melipononi y Apini. La tribu Bombini cuenta solamente con un género: *Bombus*. En el género *Bombus* se incluyen aproximadamente 250 especies, la mayoría adaptadas a climas fríos.⁽²⁾ Los abejorros son más grandes que la mayoría de las abejas, su tamaño puede variar desde 9 mm de largo hasta los 22 mm, tienen abundante vello en todo el cuerpo, y cada especie cuenta con patrones de color característicos.⁽³⁾

Estas abejas pueden dividirse en dos grupos de acuerdo a la alimentación de sus larvas: “hacedores de bolsillo” y “almacenadores de polen”. Los abejorros hacedores de bolsillo, como el nombre lo indica, construyen pequeños bolsillos en la parte inferior de las larvas, con el cual las larvas se alimentan durante su crecimiento. En el segundo grupo de abejorros, las larvas se dividen en celdas individuales de cera y seda, en la cual se desarrollarán hasta llegar a la etapa de pupa; estas larvas son alimentadas de manera individual con polen y néctar regurgitados por la reina o las obreras.⁽⁴⁾ Este segundo grupo incluye a todas las especies que se utilizan de manera comercial, ya que los abejorros “hacedores de bolsillo” son muy difíciles de criar.⁽⁵⁾

Los abejorros forman colonias eusociales, es decir, todos los individuos de la colonia cooperan en el cuidado del nido, existe división de castas e incluso división del trabajo entre las castas femeninas.⁽⁶⁾

División de castas (**Fig. 1**):

- **Reina:** es la única hembra fértil y se diferencia de las obreras principalmente por tener un mayor tamaño.
- **Obreras:** se encargan de colectar alimento y de la crianza de sus hermanas y hermanos.
- **Zánganos:** su función es fecundar a una reina virgen. (Fig. 1)

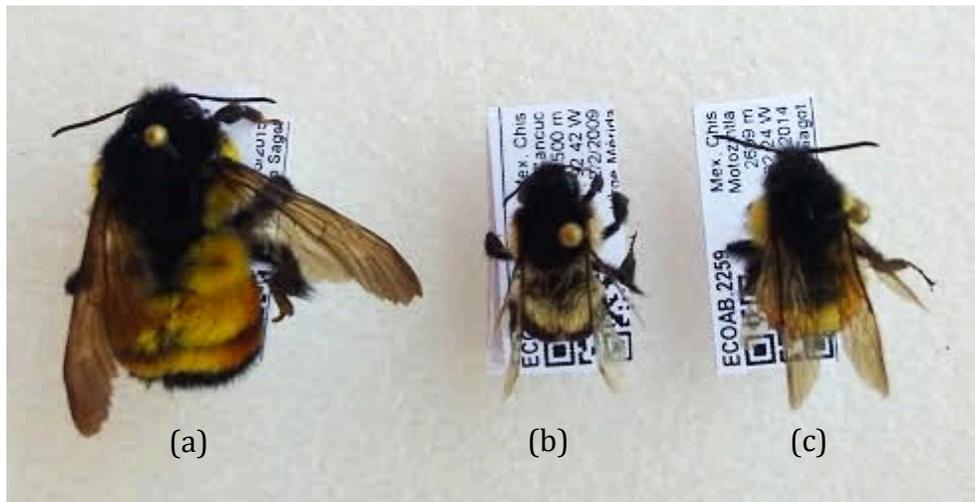


Figura 1. Diferentes castas del abejorro *B. ephippiatus*: **(a)** reina, **(b)** obrera, **(c)** zángano. Ejemplares tomados de la colección de abejas de El Colegio de la Frontera Sur.

Ciclo de vida del abejorro

En la vida silvestre, los abejorros forman sus nidos en agujeros bajo la tierra, normalmente madrigueras abandonadas. Generalmente las especies de *Bombus* tienen un ciclo de vida anual. En clima templado, donde la ecología de abejorros ha sido muy estudiada el ciclo comienza en primavera, cuando las reinas fecundadas terminan de hibernar y comienzan la búsqueda de un sitio de anidación. Al localizar el sitio donde construirá su nido, la reina construye una celda alimenticia, es decir, una copa de cera en donde almacena néctar. Para comenzar la postura coloca una mezcla de polen con néctar sobre el llamado “montículo de

cría” el cual está hecho de cera, y deposita aquí sus primeros huevos; la reina cubre este montículo con cera y polen y comienza la incubación de las crías, las cuales se mantienen a una temperatura entre 30-32°C. En su primera puesta la reina pone de ocho a dieciséis huevos que darán origen al primer grupo de obreras. Simultáneamente la reina debe salir a pecorear habitualmente para suministrar polen en la colonia. Las larvas pupan después de 10-14 días de desarrollo y se mantienen en este estado aproximadamente 14 días para finalmente eclosionar en forma de obreras adultas, las cuales deben morder la cera para salir de su celda, algunas veces con la ayuda de la reina. Después de algunos días, las obreras que nacieron comienzan a pecorear y a ayudar en la cría de sus hermanas. A partir de este momento el nido comienza a crecer, y su tamaño depende de la especie de abejorro. Cuando el nido alcanza el tamaño suficiente, termina la crianza de obreras y comienza la postura de huevos que darán origen a los individuos sexuados, es decir, zánganos y reinas. Estas castas solamente podrán producirse si existe suficiente alimento y obreras en el nido para alimentar a las larvas. En este momento algunas obreras pueden llegar a poner huevos.

Las nuevas reinas salen a pecorear para consumir polen y néctar y acumular reservas de grasa. Por su parte, los machos abandonan el nido después de algunos días de nacidos y van en busca de una reina virgen con la cual aparearse. Después del apareamiento cada reina busca un sitio para pasar el invierno, en donde permanecerá hibernando hasta la primavera. Una vez que los machos y las reinas vírgenes se han ido, el nido se deteriora rápidamente, las obreras que quedan envejecen y mueren (**Fig. 2**).^(4,7,8) Es importante mencionar que la mayoría de las especies de abejorro son monándricas, es decir, se aparean una sola vez y con un solo macho, sin embargo se ha visto que las reinas de la especie *B. hypnorum*, se aparean más de una vez con distintos machos. No existen estudios que

muestren si la especie *B. ephippiatus* es monoándrica o poliándrica. A diferencia de la abeja *Apis mellifera*, cuyo apareamiento se lleva a cabo en el vuelo y muy rápido, los apareamientos de los abejorros son más largos, y duran en promedio 36-44 min mientras los individuos se posan en el suelo o en ramas de los árboles; al terminar el apareamiento, los machos transfieren un tapón gelatinoso al tracto genital de la abeja, el cual evita futuros apareamientos con otros machos.

Existen cuatro mecanismos por medio de los cuales los machos y las hembras se encuentran para aparearse, dependiendo la especie:

- 1) Territorialidad: Algunas especies de *Bombus* se posan en algún punto y buscan a una reina, estas especies tienen ojos compuestos muy grandes y desarrollados. Algunas especies que llevan a cabo este mecanismo son: *B. confusus*, *B. mendax*, *B. nevadensis*, *B. griseocollis*, y *B. rufocinctus*.⁽⁹⁻¹¹⁾
- 2) Vigilancia de nidos: En este método los machos se paran afuera de otros nidos de los cuales están por emerger reinas vírgenes, y al verlas salir, se aparean con ellas. Algunas especies que realizan esto son: *B. subterraneus*, *B. californicus*, *B. sonorus*, *B. fervidus*, *B. muscorum* y *B. ruderarius*.⁽¹²⁻¹⁵⁾
- 3) Cima de la colina: Los machos se congregan en el punto más alto de la zona y las reinas que están listas para aparearse vuelan hacia allá. Se ha observado este comportamiento en *B. lucorum* y *B. sylvestris*.⁽⁴⁾
- 4) Marcaje y patrullaje: los machos que hacen esto vuelan en circuitos repetidos en los cuales, marcan con feromona ciertos puntos, en donde podrán encontrarse con las reinas y aparearse. Es el mecanismo más común y varía la altura dependiendo de la especie: *B. hortorum* y *B. Sylvestris* (1 m. del suelo), *B. lapidarius*, *B.*

terrestris y *B. lucorum* (hasta 17 m. del suelo).^(4,16-20)

Aún no se sabe que mecanismo usa el abejorro *Bombus ephippiatus*, hacen falta estudios en campo para conocer su comportamiento reproductivo en vida silvestre.

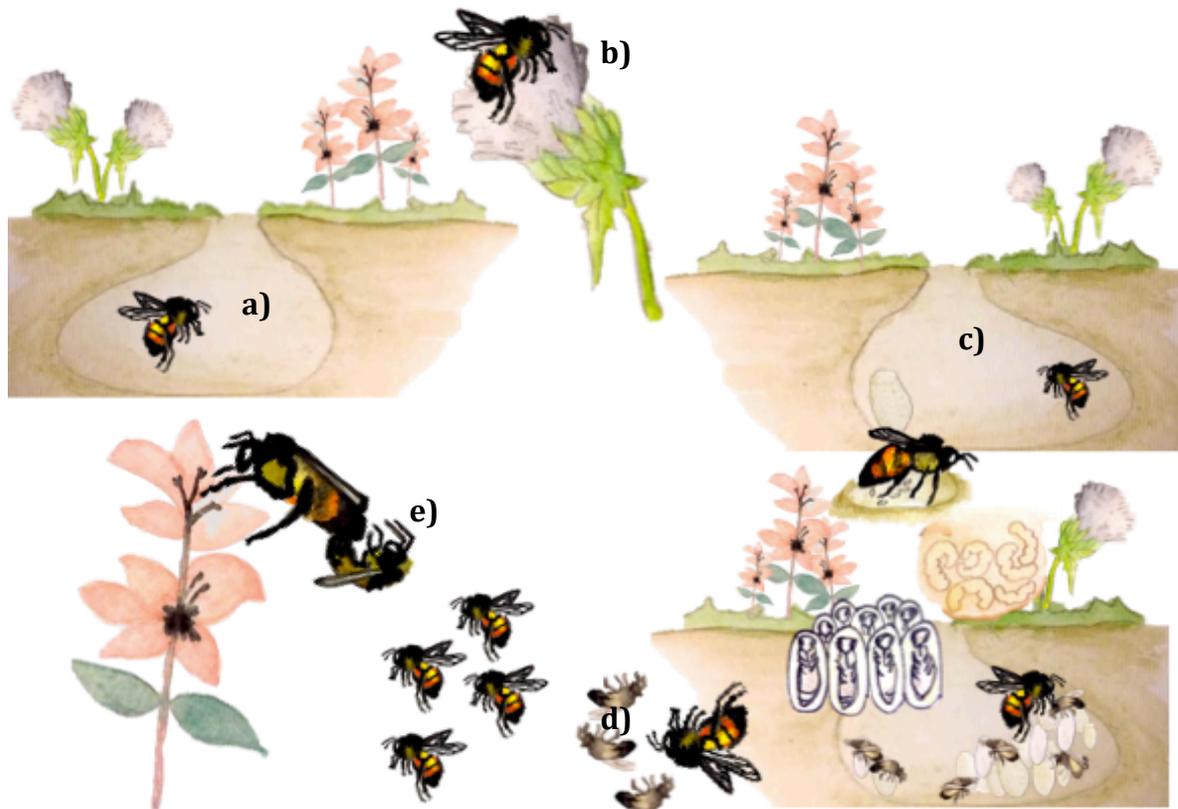


Figura 2. Ciclo de vida del abejorro. (a) La reina hiberna después de haber sido fecundada por un zángano. (b) La reina termina la hibernación y sale en busca de un sitio de anidación, para el cual colecta polen y néctar. (c) La reina comienza la fundación del nido, con una celda alimenticia y la postura de sus primeros huevos. (d) Nacimiento de obreras y crecimiento del nido hasta la producción de sexuales. (e) Los zánganos y reinas vírgenes abandonan el nido y buscan aparearse. Elaborado por: Martínez de Castro Dubernard Alejandra.

Comercialización de abejorros

Los abejorros se utilizan como polinizadores en invernadero para más de 26 cultivos como el kiwi, calabaza, trébol rojo, arándano, mora azul, almendra, pera y manzana⁽²¹⁾, aunque el 95% de su uso es para polinización de jitomate^(5,22), por esta razón la comercialización masiva de abejorros se ha expandido mundialmente. Los abejorros comenzaron a comercializarse después de que el Dr. de Jonghe, veterinario belga, descubre el valor polinizador del abejorro europeo *Bombus terrestris*. Hasta ese momento, la polinización en invernadero se realizaba de forma mecánica y manual, técnicas que resultaban más caras y menos eficientes, por lo que en 1987 nace *Biobest*, empresa de origen belga que se dedica a la crianza y comercialización de abejorros (*Bombus terrestris*); posteriormente en 1988 y 1989 surgen las empresas *Koppert Biological Systems* y *Bunting Brinkman Bees*, ambas holandesas.

Hasta el día de hoy existen 5 especies que se han logrado criar y comercializar para la polinización de cultivos. A continuación se muestran estas especies y sub-especies de abejorros (**Cuadro 1**):

Cuadro 1. (sub-) especies de abejorros criados comercialmente para polinización de cultivos. Tomado y modificado de Velthuis y Van Doorn 2006.⁽⁵⁾ México cría la especie exótica *Bombus impatiens*.

Especie	Origen	Donde se usa
<i>B. terrestris</i> L.	Europa, Norte de África, Oeste de Asia	Europa, Norte de África, Asia, Australasia, Sudamérica
<i>B. terrestris canariensis</i> Pérez	Islas canarias	Islas canarias
<i>B. lucorum</i> L.	Europa, Asia	Asia del este
<i>B. ignitus</i> Smith	Asia del este	Asia del este
<i>B. occidentalis</i> Greene	Oeste de Norteamérica	Oeste de Norteamérica
<i>B. impatiens</i> Cresson	Este de Norteamérica	Norteamérica, México

B. terrestris es el abejorro más usado a nivel mundial y actualmente sus servicios bajo invernadero tienen un valor económico aproximado de 55 millones de euros, con la comercialización de 2 millones de colonias al año.⁽⁵⁾

En México el comercio de abejorros comienza en 1994, con la introducción de la especie norteamericana *Bombus impatiens*, principalmente para la polinización del cultivo de jitomate.^(5,21) En 1995 existió la intención de importar abejorros de la especie *B. terrestris* a Jalisco sin embargo, esto se canceló después de detectar al microsporidio *Nosema bombi* en las colonias, las cuales fueron destruidas.⁽²¹⁾ Actualmente en México se venden alrededor de 55,000 colonias de la especie *Bombus impatiens* al año,⁽⁵⁾ producidas por las empresas *Koppert Biological Systems* y *Biobest* cuyas unidades productivas se encuentran en Querétaro y Jalisco, respectivamente. Es importante mencionar que nunca existió un análisis de riesgos antes de la introducción de esta especie.⁽¹⁾

Riesgos e implicaciones del comercio de abejorros

El comercio de abejorros ha dado lugar a la invasión de especies exóticas en algunas regiones y como una de las evidencias más viejas existe el caso de Nueva Zelanda, con la liberación de seis especies de abejorro en los años 1886 y 1906, y cuyo objetivo era la polinización del trébol rojo; cuatro de estas especies lograron establecerse en el país.^(23,24) En el año 1992 se documentó la presencia de *B. terrestris* en Tasmania y su presencia se asocia a la invasión de esta especie en Nueva Zelanda. Como otro ejemplo tenemos la invasión de las especies europeas *B. terrestris* y *B. ruderatus* en los países sudamericanos Chile y Argentina.⁽²⁵⁻²⁸⁾ Estas invasiones han dado lugar a la competencia por recursos y

sitios de anidación entre especies nativas e introducidas. Por otra parte, existen distintas enfermedades que afectan a los abejorros, entre ellas las parasitarias como el ácaro traqueal *Locustacarus buchneri*, el microsporidio *Nosema bombi*, el trypanosomátido *Crithidia bombi*, el parásito *Apicystis bombi*, y diferentes es virus como el de las alas deformes (WDV), parálisis aguda (ABPV), parálisis crónica (CBPV), parálisis israelí (IAPV) y el virus de Kashmir (KBV).^(5,23,29-33) En los últimos años ha habido un declive en poblaciones de abejorros nativos, como es el caso de *Bombus dahlbomii* en Sudamérica, cuya población ha desaparecido en regiones donde se estableció *Bombus terrestris*.⁽²⁵⁾ En 1966 se reportó la existencia de *Bombus terrestris* en Japón, la cual ya se estableció en la isla de Hokkaido y se observó un paralelismo entre la disminución poblacional de la especie nativa *Bombus hypocrita sapporoensis* y un aumento en la población de la especie exótica *B. terrestris*.^(5,34,35) En Norteamérica se ha reportado la disminución poblacional de *B. affinis*, *B. occidentalis*, *B. franklini* y *B. terrícola*, y se piensa que las causas de esto tienen algo que ver con el comercio de abejorros.⁽³⁶⁾ Respecto a México, en el año 2015 se realizó un estudio donde se encontró *Nosema bombi* y *Nosema ceranae* en abejorros nativos silvestres, la presencia del microsporidio fue más alta en los estados productores de jitomate en invernadero: Sinaloa, Zacatecas, Michoacán, Jalisco y Colima, por lo que se atribuye a la presencia de colonias de *Bombus impatiens* aunque no exista evidencia de esto.⁽³⁷⁾ En el mismo año Sachman-Ruiz *et al* analizaron abejorros comerciales de 120 invernaderos de Querétaro y encontraron *C. bombi* en el 14.4% de las colonias, lo que puede suponer un riesgo para las poblaciones nativas de abejorros.⁽²⁹⁾ También se han encontrado individuos de *B. impatiens* en libertad en Jalisco, lo cual indica que la especie se ha escapado de los invernaderos y que se puede establecer en el ambiente, lo que podría

tener consecuencias sobre las poblaciones de abejas nativas.⁽²¹⁾

En este contexto, se ha propuesto la cría y producción de especies nativas de cada país tratando de evitar así la introducción de especies.⁽²²⁾ En México existe una preferencia por la crianza del abejorro mesoamericano *Bombus ephippiatus* y desde el año 2001 se han buscado técnicas para su producción. Sin embargo, no se ha podido lograr el ciclo completo de esta especie bajo condiciones controladas, es decir, en cautiverio y ha sido necesaria la captura de reinas silvestres para su crianza.

Abejorro *Bombus ephippiatus*

El abejorro *Bombus ephippiatus* es una especie de clima tropical que se distribuye en México y Centroamérica y es considerada la especie con mayor distribución en casi todo el territorio nacional, desde Chihuahua hasta Chiapas y con una distribución altitudinal desde 800 a 3400 msnm.⁽³⁸⁻⁴⁰⁾ Se caracteriza por tener un carácter dócil lo que facilita su manipulación.⁽⁴¹⁾ Las colonias de esta especie se encuentran activas todo el año y el número de individuos depende de la altitud, siendo un promedio de 400 individuos en altitudes de 2500 m y de 150 individuos en altitudes menores.⁽³⁸⁾ Este abejorro pertenece al grupo de los considerados “almacenadores de polen” por lo que es más fácil su crianza en cautiverio.⁽³⁹⁾ A diferencia de las especies de climas templados, las reinas de *Bombus ephippiatus* no hibernan, y comienzan un nuevo ciclo después de haberse apareado.⁽⁴²⁾

Fenotípicamente esta especie presenta una coloración rayada que alterna amarillo y negro con coloraciones naranjas en los tergitos 3-5 del abdomen^(39,40) sin embargo, existe una gran variedad de patrones, dependiendo de su origen geográfico.

Aunque aún no se ha logrado la crianza y comercialización de esta especie, es

importante mencionar que Duennes y col. (2012) proponen que con fines comerciales esta especie no debe tratarse como una sola, ya que al realizar un análisis de genética molecular, se demostró el complejo de especies *ephippiatus-wilmattae*, integrado por cuatro linajes cercanos aunque diferentes genéticamente y separados por barreras geográficas, por lo que al comercializarse podrían existir riesgos de hibridación y alteración reproductiva en México y Centroamérica.⁽⁴³⁾

Abejorro *Bombus ephippiatus* como polinizador

En el 2012 Esquivel comparó al abejorro *Bombus ephippiatus* con otras técnicas de polinización en cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum*). Se comparó con el abejorro exótico *Bombus impatiens*, vibración manual, aplicación de fitohormona, y polinización por viento. Los resultados mostraron que *Bombus ephippiatus* incrementa la cantidad y calidad del tomate.⁽⁴⁴⁾ En ese mismo año Vergara C, y Fonseca-Buendía comparan el efecto polinizador de *B. ephippiatus* en el jitomate (*Solanum Lycopersicum*), en donde el peso de la fruta y el número de semillas resulta mayor que la polinización mecánica y manual.⁽⁴⁵⁾

En el año 2013, Torres R. evalúa la eficiencia polinizadora del abejorro *B. ephippiatus* en cultivos de invernadero de jitomate (*Solanum lycopersicum*) y la compara con la del abejorro comercial *B. impatiens*; esta comparación resulta en la misma eficiencia polinizadora en ambas especies, donde se midieron parámetros que indican calidad frutal: peso, número de semillas y diámetro, por lo que en este marco es posible considerar a *Bombus ephippiatus* como posible polinizador manejado.⁽⁴⁶⁾

Cría y manejo de abejorros en cautiverio

La crianza de abejorros ha tenido cambios a través del tiempo por lo que se ha tenido que generar información y tecnología antes de que los abejorros que se comercializan pudieran ser producidos de manera masiva. La crianza de abejorros comienza como “hobby” y en 1912 FWL Sladen, quien capturaba reinas silvestres para criarlas, publica sus observaciones en un libro llamado “*The humble bee*”; una de sus aportaciones es la estimulación de postura al colocar una obrera ajena con la reina antes de iniciar el nido. No obstante uno de los problemas para la cría de abejorros observada por Sladen fue el control de apareamientos y de época de hibernación. Posteriormente se realizan capturas de reinas silvestres por parte del *Instituto Polaco de Investigación* en Pulawy, colocando cajas de un metro cúbico con flores para atraer reinas que inicien el nido, sin embargo, al ser el método muy laborioso, se comenzaron a explorar técnicas de cría en laboratorio, en donde se descubrió que las especies almacenadoras de polen como *Bombus terrestris* y *Bombus lucorum* eran más fáciles de criar.⁽²²⁾ Dentro del laboratorio se desarrollaron técnicas de alimentación, reproducción y condiciones ambientales para el éxito en la crianza de abejorros, las cuales se mencionarán más adelante. Es importante señalar que para la crianza del abejorro *Bombus ephippiatus* ha sido hasta ahora necesaria la captura de reinas silvestres fecundadas.^(1,46)

Condiciones ambientales en el cuarto de cría

Dentro del cuarto de cría es muy importante tener el control de la temperatura y la humedad relativa. Estas condiciones difieren dependiendo de la especie de abejorro que se

desea criar. Específicamente para *Bombus ephippiatus*, Montemayor y Cuevas, mencionan que la temperatura y humedad óptimas en el cuarto de cría deben ser $30^{\circ}\text{C} \pm 1$ y $55 \pm 5\%$ respectivamente.⁽⁴⁷⁾ Bullé-Bueno menciona que existe una correlación entre estos dos parámetros y el número de huevos y pupas en los nidos de *Bombus ephippiatus* y se observa en sus datos los efectos negativos inmediatos relacionados con variaciones en la temperatura⁽⁴⁸⁾.

A continuación, se muestran (**Cuadro 2**) la temperatura y humedad necesarias para la crianza de distintas especies de abejorro.

Cuadro 2. Rangos óptimos de temperatura y humedad para diferentes especies de *Bombus sp.* Elaborada por Bullé-Bueno (2015)

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

Otro factor importante que debe mencionarse en este apartado es la luz del cuarto, la cual como medida de seguridad para el manejador debe de ser roja, debido a que el espectro visible de los abejorros no incluye el color rojo, por lo que será como mantenerlos en la oscuridad y serán menos defensivas al manipularlas.^(41,47)

Alimentación

Al igual que otras abejas, en situaciones silvestres los abejorros toman como fuente de energía el néctar de las flores y como proteína utilizan el polen. Para la producción de abejorros un factor esencial es la alimentación. Pelletier y McNeil mencionan que se debe satisfacer todas las necesidades del abejorro y que nunca puede faltar si se quiere tener una producción eficiente.^(41,49) La cantidad y el tipo de polen son decisivos para la iniciación de una colonia y su crecimiento. El polen administrado se colecta de colmenas de abejas *Apis mellifera*, y se proporciona fresco, es decir, sin deshidratar antes de darlo a los abejorros; debe ser reemplazado cada dos días, ya que si permanece ahí, se seca y pierde palatabilidad.^(50,51) Como fuente de energía y reemplazo de néctar, se utiliza jarabe con azúcar, cuya receta puede variar, aunque se ha visto que una dilución 1:1 de agua con azúcar funciona bien como reemplazo de néctar.^(22,41,47,48,52)

Reproducción

Igual que otras especies de abejas, el sistema de determinación sexual de los abejorros es haplodiploide, es decir, las hembras presentan material genético de ambos padres y son diploides ($n=36$ en *Bombus ephippiatus*), mientras que los zánganos son haploides ($n=18$)⁽⁵³⁾ y solo presentan material genético de la madre, pues se desarrollan a partir de un huevo sin fecundar.

En la mayoría de las especies las reinas son monándricas, lo que significa que se aparean solamente una vez y con un solo macho. Sin embargo se ha visto que las reinas de *B. hypnorum* pueden aparearse de una a tres veces.^(4,53,54) Hasta el día de hoy, no se ha

estudiado si la especie *B. ephippiatus* es monoándrica.

En el caso de los abejorros, una reina fecundada va a fundar el nido. Las reinas dominan la reproducción en las etapas tempranas del nido, sin embargo, casi al final del ciclo las obreras dominantes activan sus ovarios y compiten por la postura de huevos haploides con la reina y con otras obreras.^(4,55) Este conflicto entre las obreras y la reina se llama “fase de competencia” y surgen comportamientos agresivos entre las obreras y la reina (matricidio, destrucción de celdas ajenas, consumo de huevos ajenos, y ataque físico).⁽⁵⁶⁾

Microcolonias

Una microcolonia es una colonia huérfana, constituida normalmente por cinco obreras recién nacidas, en donde una de ellas se convierte en la abeja dominante y comienza la postura de huevos sin fertilizar los cuales darán origen a zánganos,⁽⁵⁷⁾ se les considera indicadores confiables de tendencias en colonias más grandes.⁽⁵⁸⁾

JUSTIFICACIÓN

Al existir distintos peligros potenciales como la competencia por recursos y las enfermedades debido a la introducción de especies exóticas, es indispensable tomar acciones para la conservación de especies locales, por lo que es necesario encontrar nuevas estrategias para la reproducción de abejorros nativos, en este caso *Bombus ephippiatus*, para que sean utilizados como polinizadores a nivel comercial sustituyendo así a las especies comerciales introducidas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el desarrollo de microcolonias de *Bombus ephippiatus* a partir de dos dietas diferentes y el éxito reproductivo de los zánganos nacidos en estas microcolonias.

Objetivos específicos

- Analizar el efecto del polen de dos diferentes orígenes geográficos y tiempo de almacenamiento sobre la fundación del nido y el desarrollo de microcolonias mediante el conteo de celdas y tiempo de eclosión de los zánganos.
- Producir zánganos de *Bombus ephippiatus* a partir de microcolonias para su uso reproductivo bajo condiciones controladas.
- Identificar las condiciones más favorables (estacionalidad, edad y dieta) para que exista acoplamiento y fecundación entre zánganos y reinas de *Bombus ephippiatus* nacidos bajo condiciones controladas.

HIPÓTESIS

El tipo de polen para la alimentación y su tiempo de almacenamiento afecta el desarrollo las microcolonias de *Bombus ephippiatus* y el éxito en la fecundación por parte de los zánganos producidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Localización geográfica

Este trabajo se realizó en la unidad San Cristóbal de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) la cual se encuentra en el municipio de San Cristóbal de Las Casas en la región de los Altos, Chiapas (**Fig 3.**). Según la clasificación de Köppen, modificada por García (1988) en esta zona predomina el clima templado subhúmedo y templado húmedo con lluvias en verano, con temporada de secas durante los meses de julio y agosto. En invierno se presentan heladas, y la precipitación media anual es de 1100-1600 mm⁽⁵⁹⁾. Los abejorros con los que se trabajó provienen de esta región.

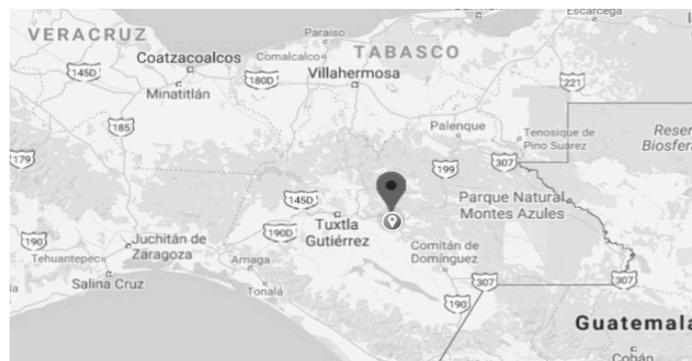


Figura 3. Localización del Colegio de la Frontera Sur, Unidad San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México.

2. Abejorros

Se trabajó con la especie de abejorro *Bombus ephippiatus*. Los individuos fueron tomados del cuarto de cría de abejorros de ECOSUR. Las reinas progenitoras de estos abejorros fueron colectadas en diferentes localidades de San Cristóbal de Las Casas: El Encuentro, Aeropuerto viejo, Corazón de María.

2.1 Microcolonias

Para la formación de microcolonias se seleccionaron siete obreras recién nacidas de cada nido *B. ephippiatus* nacidas en cautiverio en el laboratorio de cría controlada de abejorros del Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Las obreras fueron colocadas en cajas de iniciación, en donde una obrera se convirtió en dominante y comenzó la postura de huevos sin fecundar dando origen a zánganos. Se formaron 6 microcolonias a partir de cada colonia del laboratorio de cría de abejorros, por lo que se formaron 42 microcolonias.

2.1.1 Cajas de iniciación

Se utilizaron cajas de iniciación que constan de tres paredes laterales y una tapa de madera de 1 cm de grosor. La cara frontal es una placa de vidrio deslizable de 2 mm de grosor (26.6 cm x 6.3 cm) y como base cuentan con una tela de alambre situada a 2 cm del suelo para ventilar el nido. Dentro de la caja se colocó un tubo de ensayo plástico, perforado en su extremo inferior como alimentador para administración del jarabe de fructosa y una tapa de caja de Petri para proporcionar una base sólida a los abejorros y a manera de comedero para administrar el polen (**Fig. 4**).



Figura 4. Caja de iniciación de abejorros. Foto: Martínez de Castro Dubernard Alejandra.

2.1.2 Dieta

El polen fresco, o sea sin deshidratar, se cosechó en dos regiones diferentes (Villaflores y El Encuentro). El polen de Villaflores tuvo más tiempo de almacenamiento (un año) y el polen de El encuentro tuvo menos tiempo de almacenamiento (un día). Ambos se conservaron almacenados en un congelador a una temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se realizó análisis bromatológico de los dos tipos de polen colectado por *Apis mellifera* para conocer el porcentaje de proteína de cada uno. El polen se mezcló con jarabe de fructosa para hacer pellets. Se administraron distintas dosis de polen dependiendo del consumo de la microcolonia (0.5 g, 1 g, 2 g). Además del polen se dio jarabe *ad libitum*. Para la evaluación de los diferentes tipos de polen se midieron diferentes parámetros dentro de las microcolonias:

- Días para iniciación de la colonia (primer celda)
- Días para el nacimiento del primer zángano (tiempo de eclosión)

- Número de zánganos nacidos
- Consumo de polen cada tercer día (g)

3. Condiciones ambientales

Las cajas de iniciación de las microcolonias se colocaron dentro del laboratorio de cría de abejorros con condiciones de temperatura y humedad relativa controlada (27 a 30 °C y 60 % HR). El laboratorio cuenta con luz roja para perturbar lo menos posible a los abejorros en la manipulación de las colonias.

4. Jaula de vuelo

Se utilizó una jaula de vuelo de 2 x 2 m (**Fig. 5**), la cual contaba con un techo para dar sombra y paredes y piso de tela mosquitera, con un cierre frontal para permitir la entrada y salida del observador. Las reinas y los zánganos se metieron en la jaula de vuelo desde las 11:00 h hasta las 14:00 h.



Fig 5. Jaula de vuelo. Foto: Martínez de Castro Dubernard Alejandra.

4.1. Cruzas

Se decidió el cruzamiento de reinas nacidas en cautiverio y los zánganos de las microcolonias de acuerdo al lugar de origen de la reina progenitora (capturada en vida libre) para así evitar problemas de consanguinidad. Se utilizaron zánganos y reinas de diferentes edades, con una relación de 2:1 (dos zánganos por reina).

En caso de que existiera apareamiento, se colocó a la reina en una caja de iniciación para observar si fundó el nido de cría. En caso de que se fundara el nido, se determinó el sexo de la descendencia para confirmar el éxito del acoplamiento, es decir, la fecundación.

5. Análisis estadísticos

El análisis estadístico se realizó con el programa *PAST 3.21*. Se probó la normalidad usando la *prueba de Shapiro-Wilk*. En los datos que se distribuyeron de manera normal (consumo de polen por tratamiento), se realizó una prueba de *t-student*. En caso de que las distribuciones no fueran normales (número de zánganos por tratamiento en las microcolonias, días para la primera celda, días de eclosión del primer zángano en microcolonias) se utilizó la prueba no paramétrica *U de Mann-Whitney*. Al final se muestra el *análisis químico proximal (AQP)* de los dos tratamientos usados en las microcolonias.

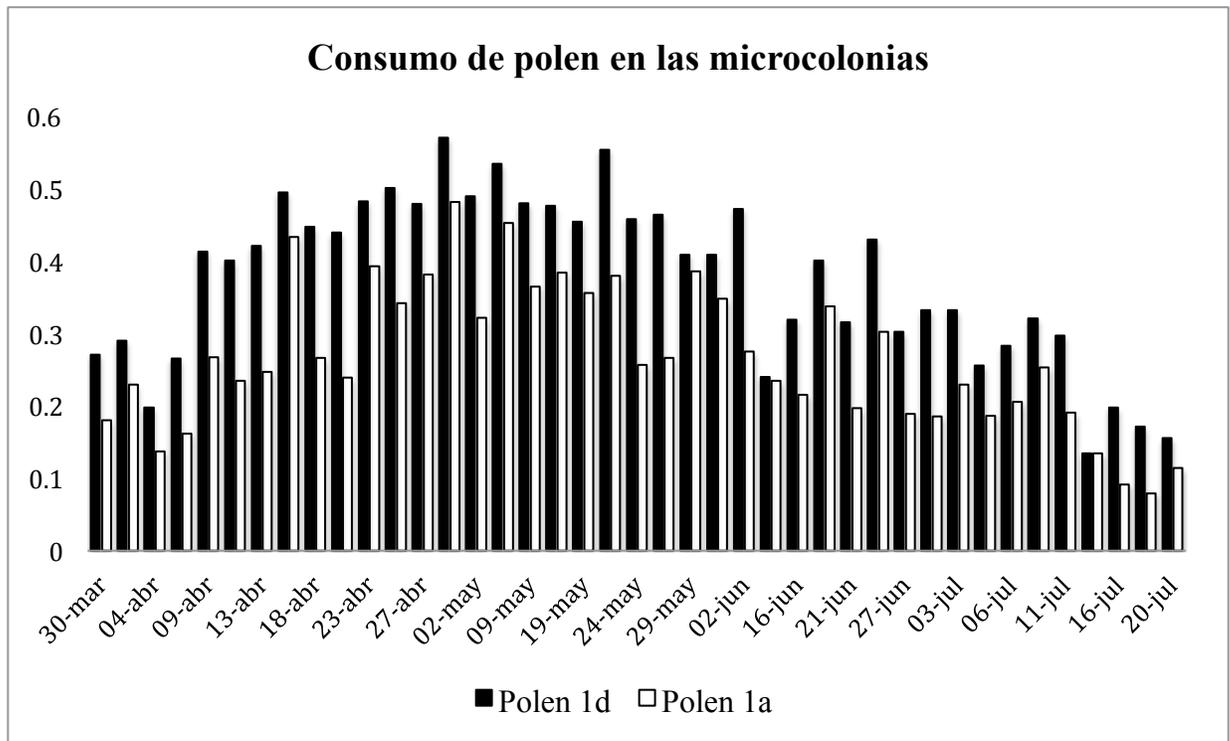
RESULTADOS

Los resultados de este estudio se dividen en dos etapas principales: (a) la etapa de evaluación del desarrollo de microcolonias y (b) la etapa reproductiva.

a) Etapa de evaluación del desarrollo de microcolonias

Efecto del tipo de polen en el consumo de las microcolonias

En el primer grupo de microcolonias, las cuales fueron alimentadas con polen de un día de almacenamiento (polen 1d), el consumo de polen fue mayor que en las microcolonias alimentadas con el polen de un año de almacenamiento (polen 1a), con un promedio de $0.37 \text{ g} \pm 0.11$ y $0.27 \text{ g} \pm 0.09$ ($P < 0.05$) respectivamente. Se observa la diferencia en el consumo de polen cada tercer día en las microcolonias (**Gráfica 1**).

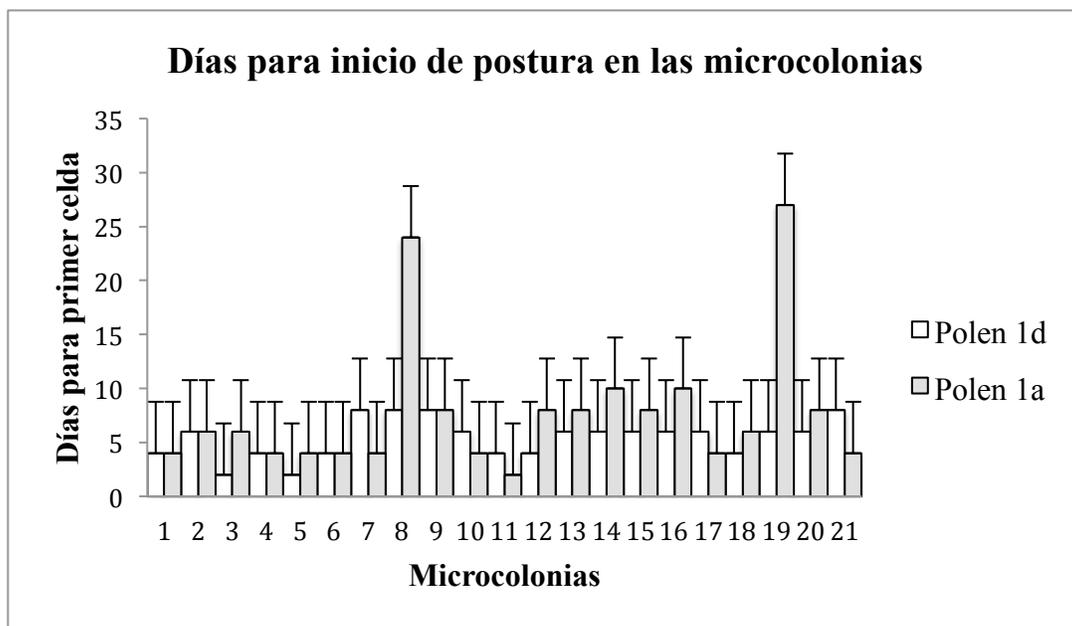


Gráfica 1. Comparación del promedio de la cantidad de polen consumida cada tercer día en microcolonias alimentadas con polen de un día y polen de un año.

Efecto de la dieta en los días para inicio de postura en las microcolonias

En la mayoría de las microcolonias fue más rápido el inicio de postura en el caso de las alimentadas con polen de un día (Polen 1d), las cuales comenzaron postura en un promedio de $5.42 \text{ d} \pm 1.8$, a diferencia de las alimentadas con polen de un año (Polen 1a), que tardaron poco más de dos días, con un promedio de $7.76 \text{ d} \pm 6.32$ ($P > 0.05$). Según el valor de P estos resultados no fueron significativos y probablemente se necesitan más repeticiones para obtener datos significativos.

Por otra parte, se puede observar dos casos en las microcolonias alimentadas con polen de un año las cuales tardaron significativamente más tiempo que las demás, con una duración de 24 y 27 días, lo cual retrasa el ciclo y la producción de zánganos con respecto a las demás microcolonias (**Gráfica 2**).



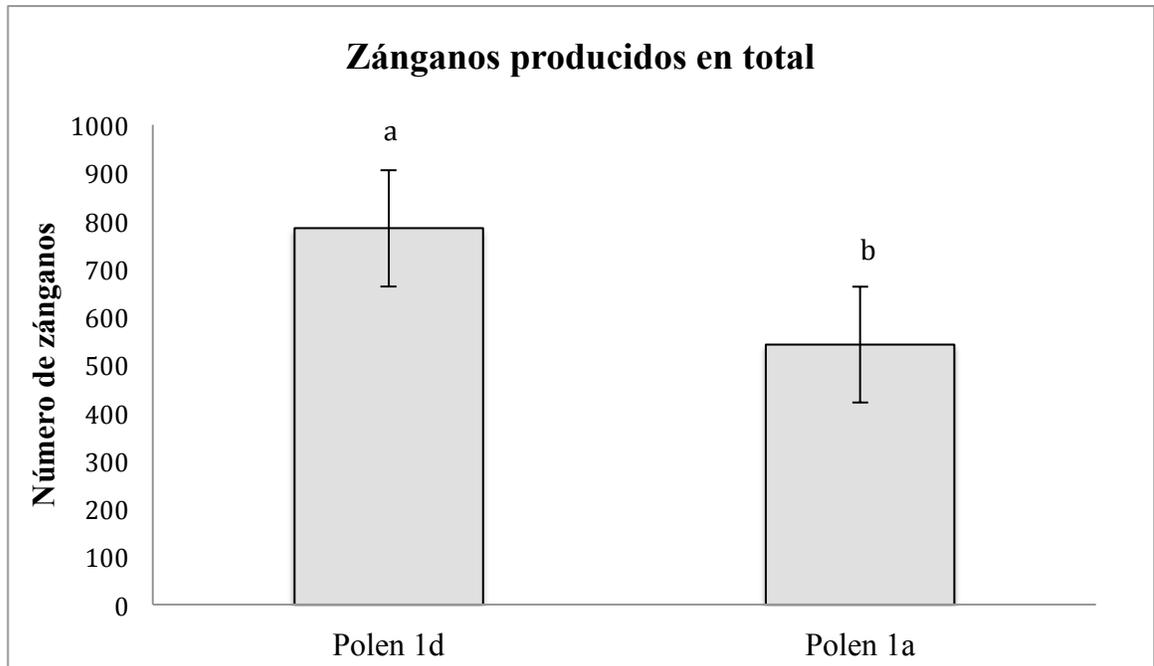
Gráfica 2. Días para la presencia de primera celda (inicio de postura) en las microcolonias

Efecto de la dieta sobre los días para la eclosión del primer zángano en las microcolonias

Otro parámetro evaluado en las microcolonias fue el promedio de días para la eclosión del primer zángano, el cual fue de casi 25 días en ambos casos, siendo en promedio de 24.8 ± 6.3 días en el caso de las microcolonias alimentadas con polen de un día, y de 25.1 ± 9.6 en el caso de las microcolonias alimentadas con el polen de un año ($P > 0.05$). La diferencia en los días de eclosión de los zánganos no fue significativa.

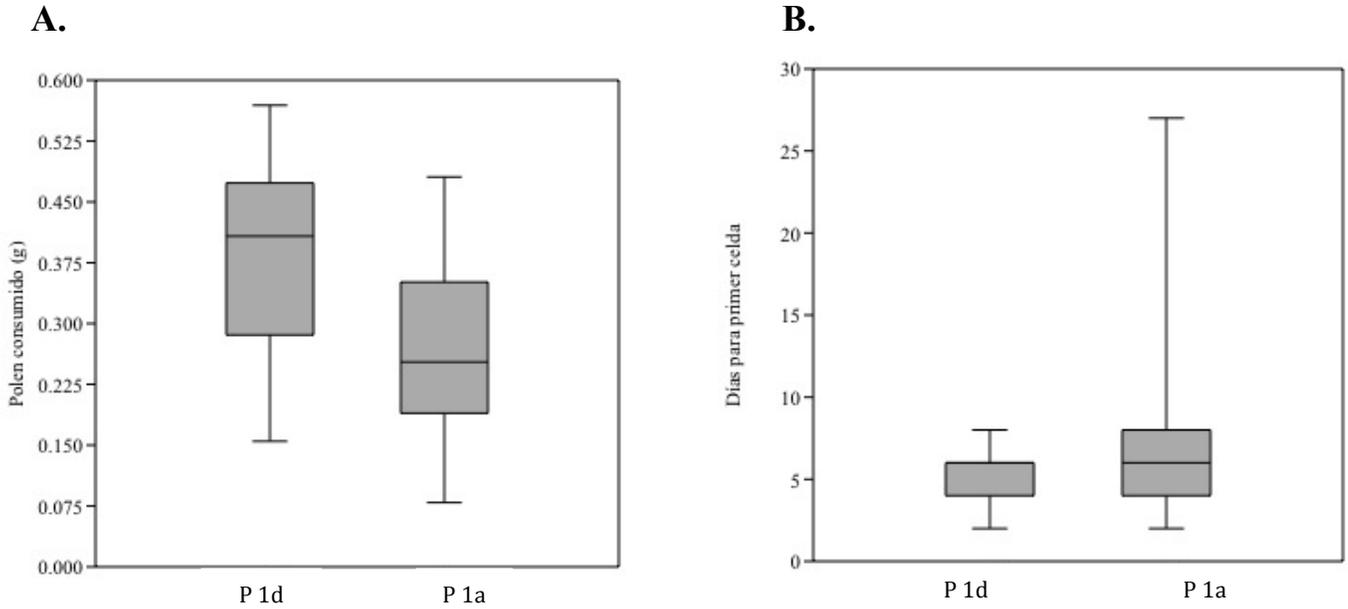
Efecto de la dieta sobre el número de zánganos producidos

Todos los días se separaron los zánganos que nacieron en las microcolonias, para saber su edad, sin embargo, es importante mencionar que incluso separados, estos zánganos se siguieron alimentando con el tratamiento de su microcolonia de origen. En los cuatro meses del experimento, el total de zánganos producidos por las 21 microcolonias alimentadas con polen de un día (polen 1d), fue de 784 (**Gráfica 3**). El número de zánganos producidos por las microcolonias alimentadas con polen de un año (polen 1a) fue de 542. Existe una diferencia significativa entre ambos tratamientos ($P < 0.05$). Existe también una correlación positiva entre el tratamiento utilizado y el número de zánganos producidos ($r = 0.26$).

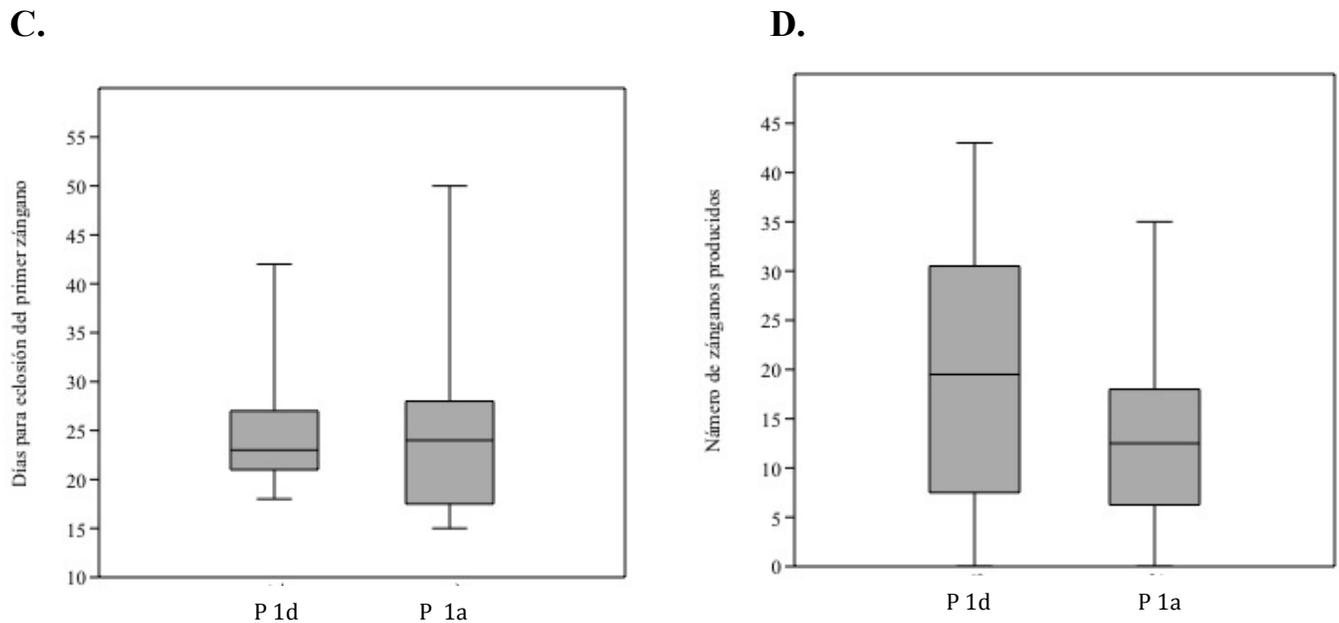


Gráfica 3. Promedio de zánganos producidos durante todo el tiempo de tratamiento en las microcolonias

A continuación se muestran los diagramas para cada uno de los parámetros que se evaluaron en esta etapa, con el fin de poder visualizar mejor la diferencia entre las medias y los valores mínimos y máximos en cada caso (**Fig.6, Fig. 7**).



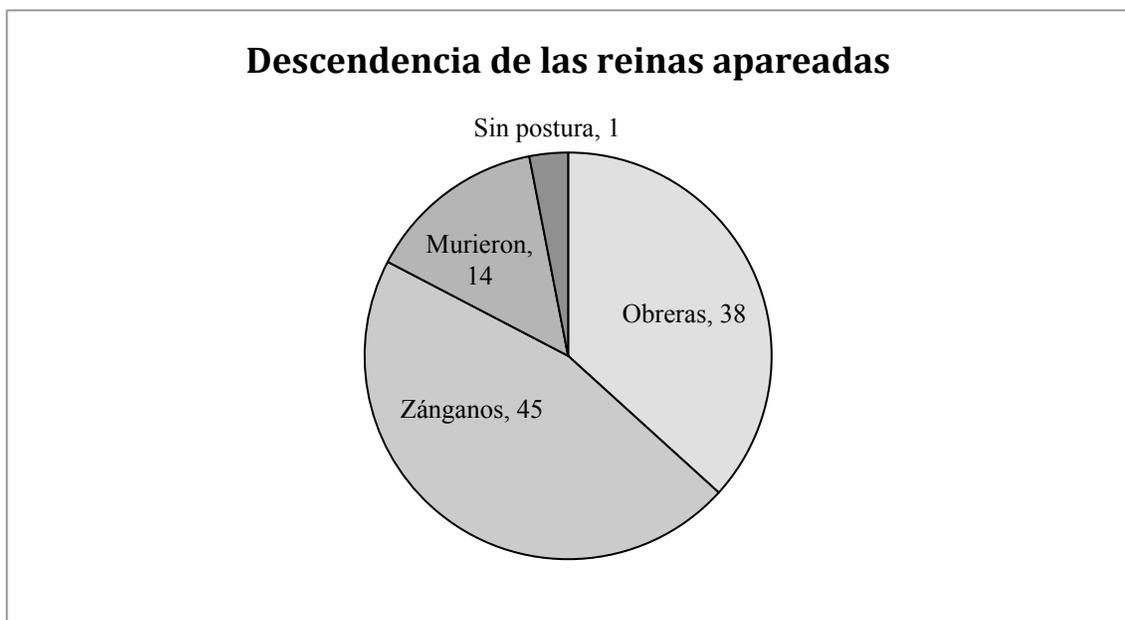
Gráfica 4. A. Polen consumido en las microcolonias. Las microcolonias alimentadas con polen fresco de un día (P 1d) consumieron significativamente más que las microcolonias que consumieron polen fresco de un año (P 1a). B. Cantidad de días para el comienzo de postura en las microcolonias, en el caso de las microcolonias alimentadas con polen de un día el promedio de días fue menor, en el caso de polen de un año fue mayor aunque esto puede deberse a los dos casos que se alejaron tanto de la media.



Gráfica 5. C. Promedio de días para la eclosión del primer zángano en las microcolonias, en ambos casos fue muy cercano, aunque hay datos muy alejados de la media en ambos tratamientos. D. Promedio de zánganos producidos cada tres días en microcolonias. Las microcolonias que recibieron polen fresco de un día (P 1d) como alimentación tuvieron significativamente más zánganos que las microcolonias que recibieron polen de un año (P 1a).

b) Etapa reproductiva

La segunda etapa del experimento se inició en el mes de abril, con el nacimiento de las nuevas reinas y zánganos, y terminó en el mes de julio, con el nacimiento de las últimas reinas de ese ciclo. Se metieron a la jaula de vuelo reinas nacidas en el cuarto de cría y zánganos nacidos en las microcolonias con una relación de 2:1 (dos zánganos por reina). Durante estos cuatro meses se observaron dentro de la jaula de vuelo 98 apareamientos de 400 reinas expuestas, es decir, un 24.5%. Las reinas apareadas fueron colocadas individualmente en cajas de iniciación para observar si hubo éxito en el apareamiento, es decir, fecundación, la cual se evaluó con la presencia o ausencia del nacimiento de obreras. En caso de que la descendencia fuera haploide, o sea, zánganos, se consideró que el apareamiento no fue exitoso. De las reinas que se aparearon en la jaula de vuelo, 38 individuos tuvieron un apareamiento exitoso (9.5%, n=400), 45 tuvieron un apareamiento no exitoso, 14 de ellas murieron y una no tuvo postura (**Gráfica 4**).



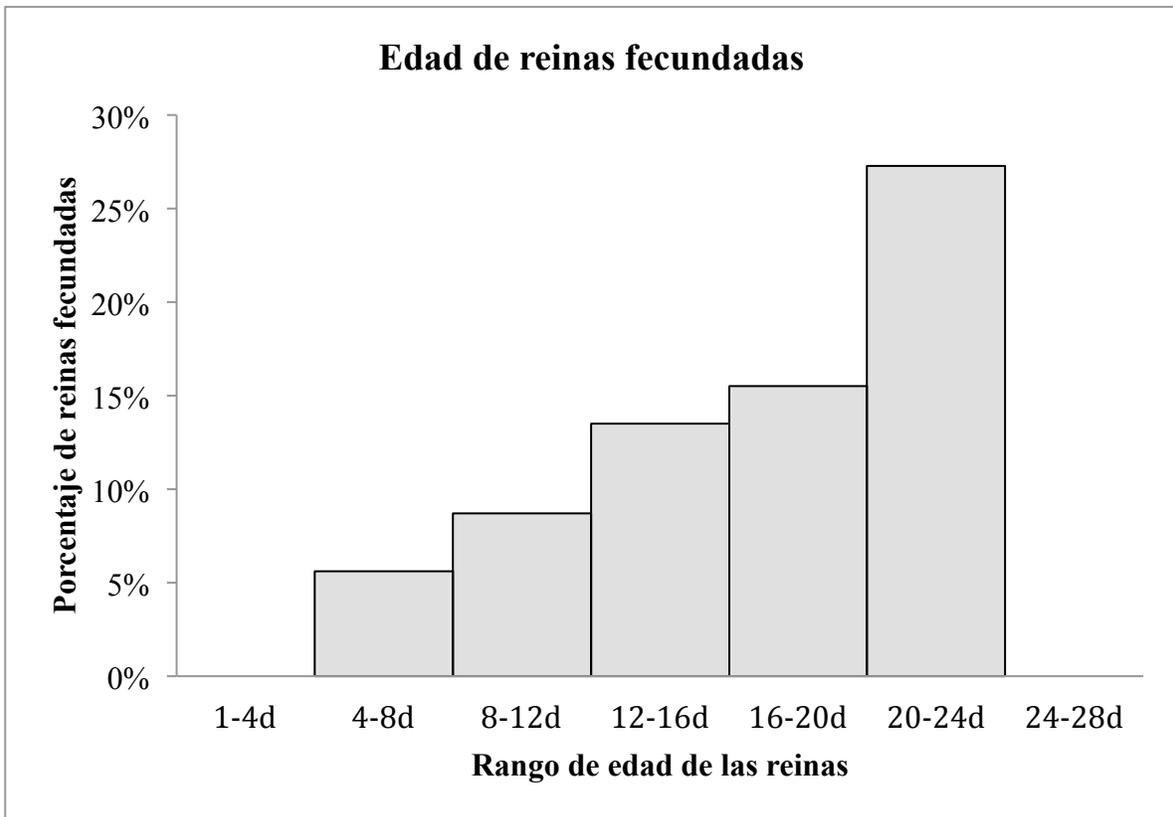
Gráfica 6. Descendencia de reinas apareadas en la jaula de vuelo.

Al conocer estos resultados, se evaluaron las condiciones en las que se encontraron las 38 reinas que tuvieron un apareamiento exitoso. Para empezar se evaluaron las edades de las reinas y los zánganos de dichos apareamientos. Para lo cual se observó que los zánganos que fecundaron reinas cuentan con una edad entre 4 -19 días de edad; por su parte las reinas que resultaron fecundadas contaron con edades entre 7-21 días de edad. Esto nos muestra que ambas castas cuentan con una ventana aproximada de dos semanas en las cuales son fértiles, estas edades coinciden en ambos sexos en las edades que van de 7-19 días de edad (**Fig 8**).

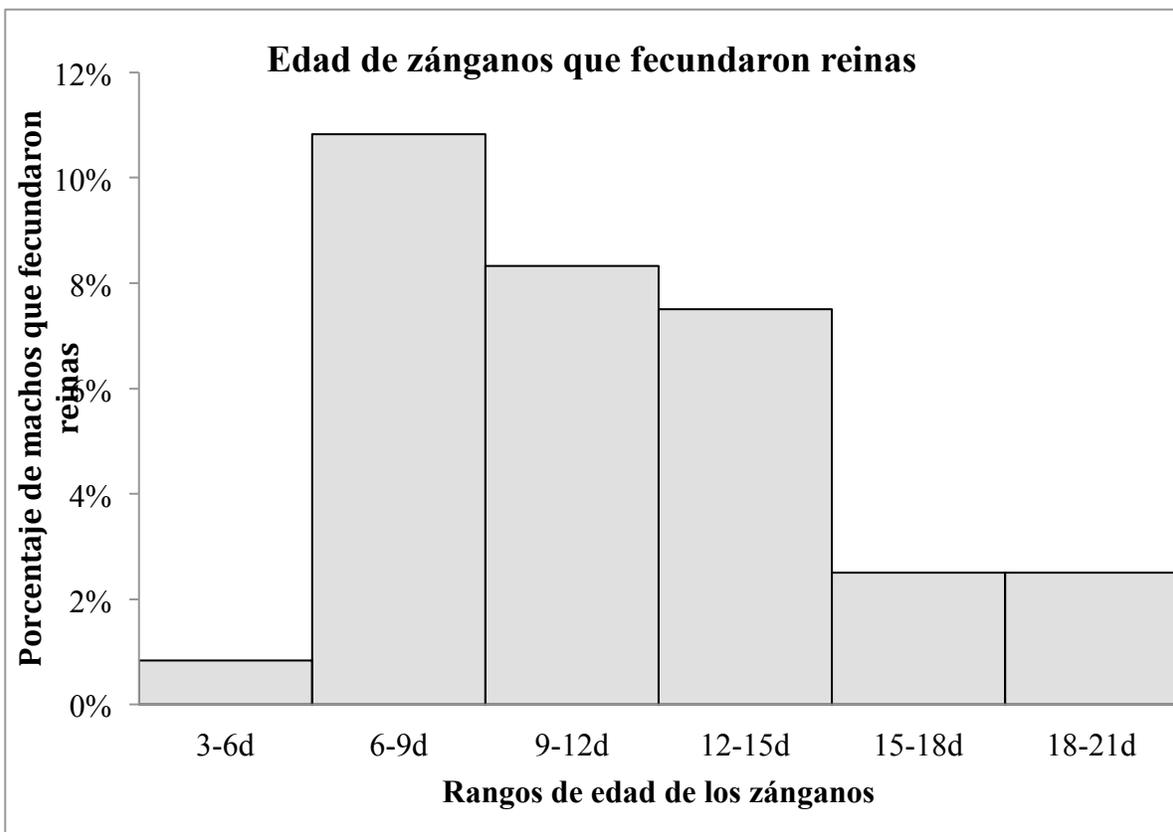


Figura 6. Línea de tiempo en donde se muestran los días de edad en los que hubo apareamientos entre reinas y zánganos. La edad de apareamientos exitosos se encuentra representada en los cuadros blancos.

De las reinas fecundadas, la mayoría se encuentra entre 20-21 días de edad (**Gráfica 5**) y en cuanto a los machos, la mayoría están entre 6-9 días de edad (**Gráfica 6**).



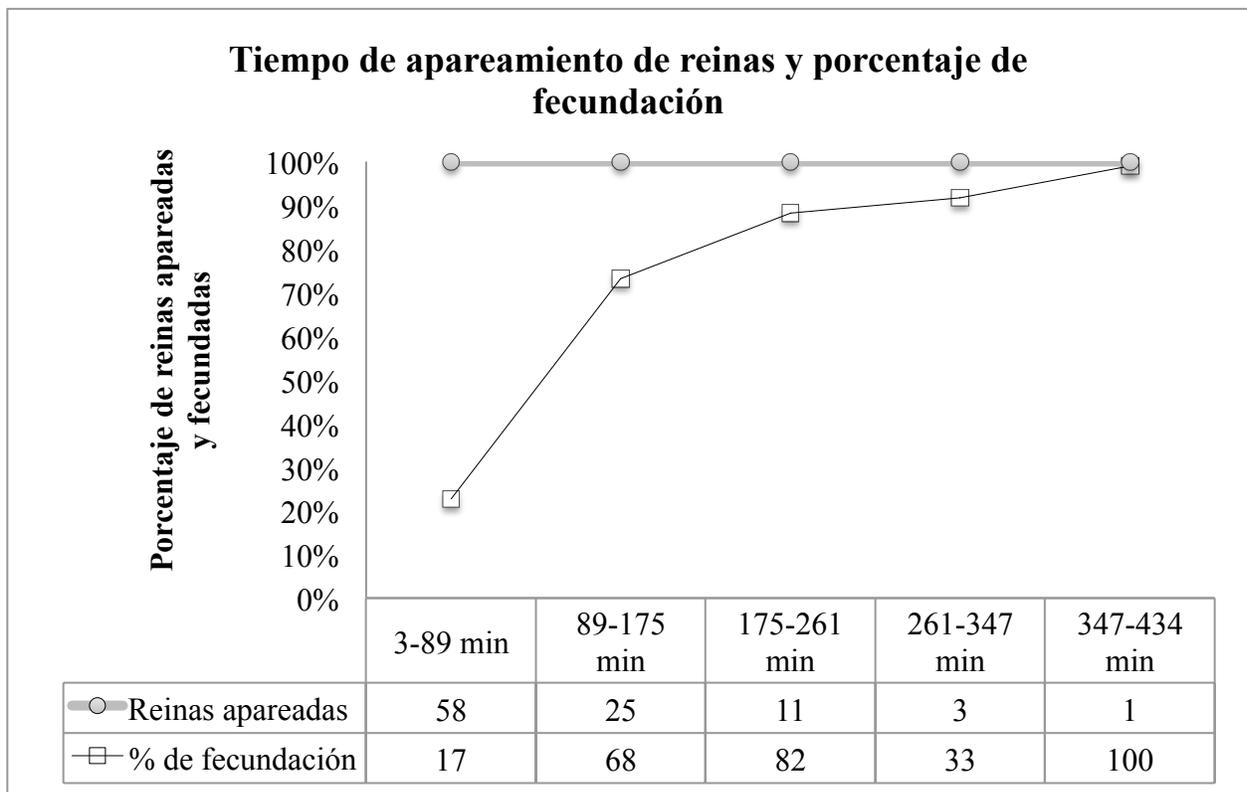
Gráfica 7. Grupos de edades de las reinas que tuvieron una fecundación exitosa.



Gráfica 8. Grupos de edades de los zánganos que fecundaron reinas.

Tiempo de apareamiento

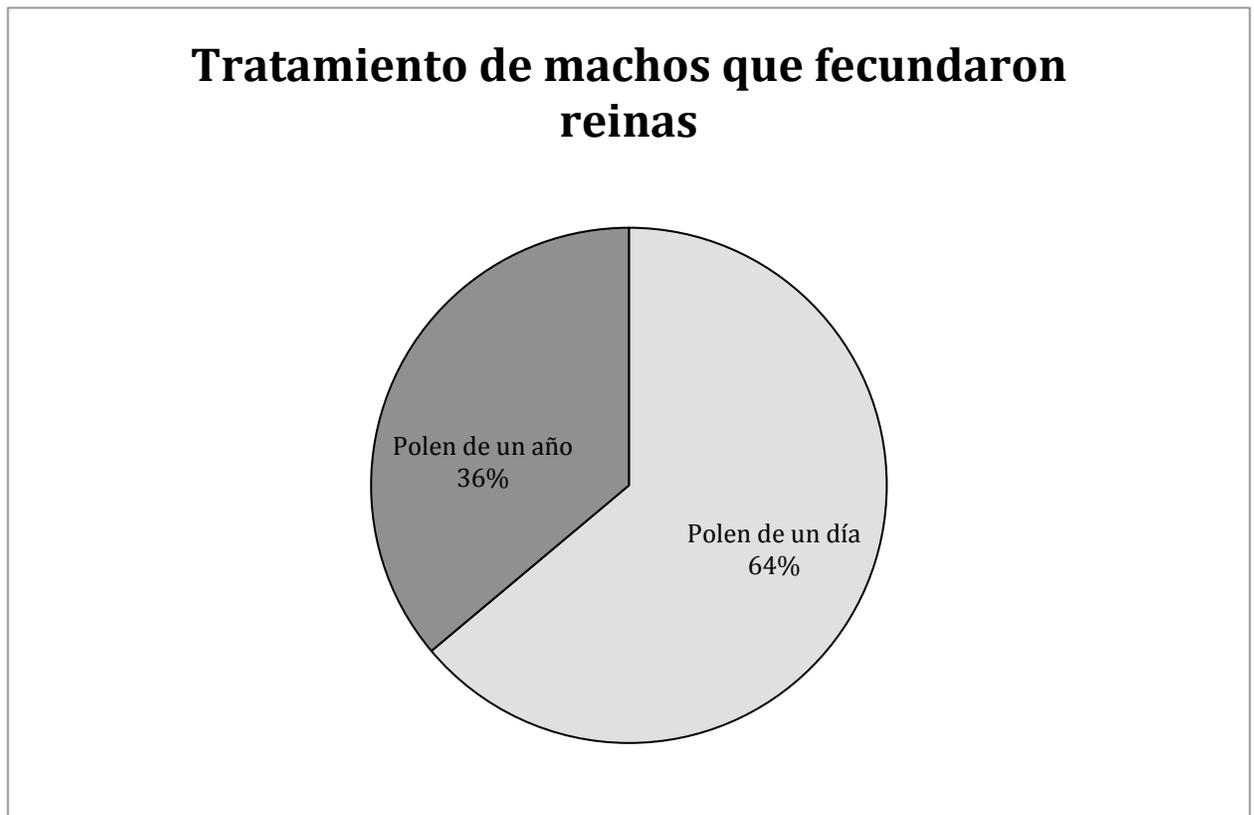
En cada uno de los apareamientos se tomó el tiempo de inicio a fin, con un promedio de 88.2 min \pm 85.2 (n=98) en todos los apareamientos observados y un promedio de 135.7 min \pm 65.9 (n=38) en los apareamientos exitosos. Hubo una correlación positiva entre el tiempo de apareamiento y la presencia de fecundación ($r=0.44$). Con respecto a las reinas que tuvieron un apareamiento exitoso, el tiempo de apareamiento tuvo mucha variación, siendo el más corto de 17 minutos y el más largo de 263 minutos. Se muestra el porcentaje de éxito con respecto al tiempo de apareamiento de las reinas (**Gráfica 7**).



Gráfica 9. Porcentaje de reinas que tuvieron fecundación con respecto al tiempo de apareamiento

Como se mencionó anteriormente, 14 reinas no sobrevivieron después del apareamiento y una reina no inició nido. De las reinas restantes, 38 tuvieron obreras, lo cual confirma el éxito de sus acoplamientos. 45 reinas tuvieron machos. Esto nos da un total de 83 reinas con descendencia.

De las reinas que tuvieron descendencia obrera, 15 fueron fecundadas por los machos que fueron alimentados con polen de un año, y 23 fueron fecundadas por machos que fueron alimentados con polen de un día es decir, 64 % y 36 % respectivamente (**Gráfica 8**).



Gráfica 10. Porcentajes de tratamiento de zánganos que fecundaron reinas

Se muestra una tabla de contingencia entre el tratamiento de los machos apareados y el éxito del acoplamiento, es decir, presencia o ausencia de fecundación (**Cuadro 3**) Entre estas dos variables existe una correlación positiva de $r=0.094$.

Cuadro 3. Tabla de contingencia de 2 x 2 para el tratamiento de los machos y el éxito del acoplamiento

	Polen fresco de un día	Polen fresco de un año	TOTAL
Fecundación	27.7%	18.1%	45.8%
No fecundación	27.7%	26.5%	54.2%
TOTAL	55.4%	44.6%	100%

Las reinas que tuvieron descendencia diploide, se siguieron alimentando y cuidando en el cuarto de cría de abejorros, y se les dio seguimiento para ver la evolución de sus nidos. Sin embargo en este trabajo solo se menciona la evolución hasta el mes de enero del 2019. Se hizo una clasificación con 5 etapas: etapa 1 (apareamiento), etapa 2 (inicio de la colonia), etapa 3 (nacimiento de primer obrera), etapa 4 (nacimiento de 60 obreras), etapa 5 (producción de sexuales). La etapa 4, la cual se caracteriza por llegar a 60 obreras en la colonia, es importante pues es un tamaño en el que la colonia ya podría comercializarse para la polinización en invernadero. Con excepción de una, todas las reinas fecundadas llegaron a esa etapa (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Evolución de las reinas a partir del apareamiento hasta la producción de sexuos (reinas y zánganos)

Etapa 1 (Apareamiento)	Etapa 2 (Inicio de la colonia)	Etapa 3 (nacimiento de primer obrera)	Etapa 4 (nacimiento de 60 obreras)	Etapa 5 (producción de sexuos)
98	81	38	37	30

No se menciona si todas las reinas fecundadas llegaron a la producción de sexuos pues no se llegó a observar el final del ciclo ya que las colonias siguieron en crecimiento.

Se realizó también un *análisis químico proximal (AQP) (Anexo 1)*, y los resultados fueron los siguientes:

Cuadro 5. Análisis bromatológico de los dos tratamientos usados en las microcolonias

Tipo de polen	Humedad g/100g	Cenizas g/100g	Proteína cruda g/100g	Fibra cruda g/100g	Grasa g/100g	Carbohidratos g/100g	Kcalorías	Sodio mg/100g	Sodio g/100g
Polen un día	28.8877	1.7024	16.0583	3.1742	1.0513	49.1261	270.1989	2.582	0.0026
Polen un año	18.1896	1.999	18.8087	3.4829	1.5223	55.9975	312.9257	3.3796	0.0034

Como se puede observar (**Cuadro 5**), aparentemente el polen fresco, es decir, sin deshidratar antes del consumo, con un año de almacenamiento es de mejor calidad nutricional, ya que cuenta con valores superiores en cuanto a nivel protéico, grasa y energético. Sin embargo, el polen de un día cuenta con más humedad que el polen de un año.

Otro resultado importante fue la observación de que para esta especie en estas condiciones de cautiverio el ciclo de vida es semestral, logrando dos ciclos productivos al año, con

apareamientos durante junio, julio y agosto, y durante diciembre enero y febrero, teniendo nidos activos durante los meses de marzo, abril y mayo, y septiembre, octubre y noviembre (Fig. 9).

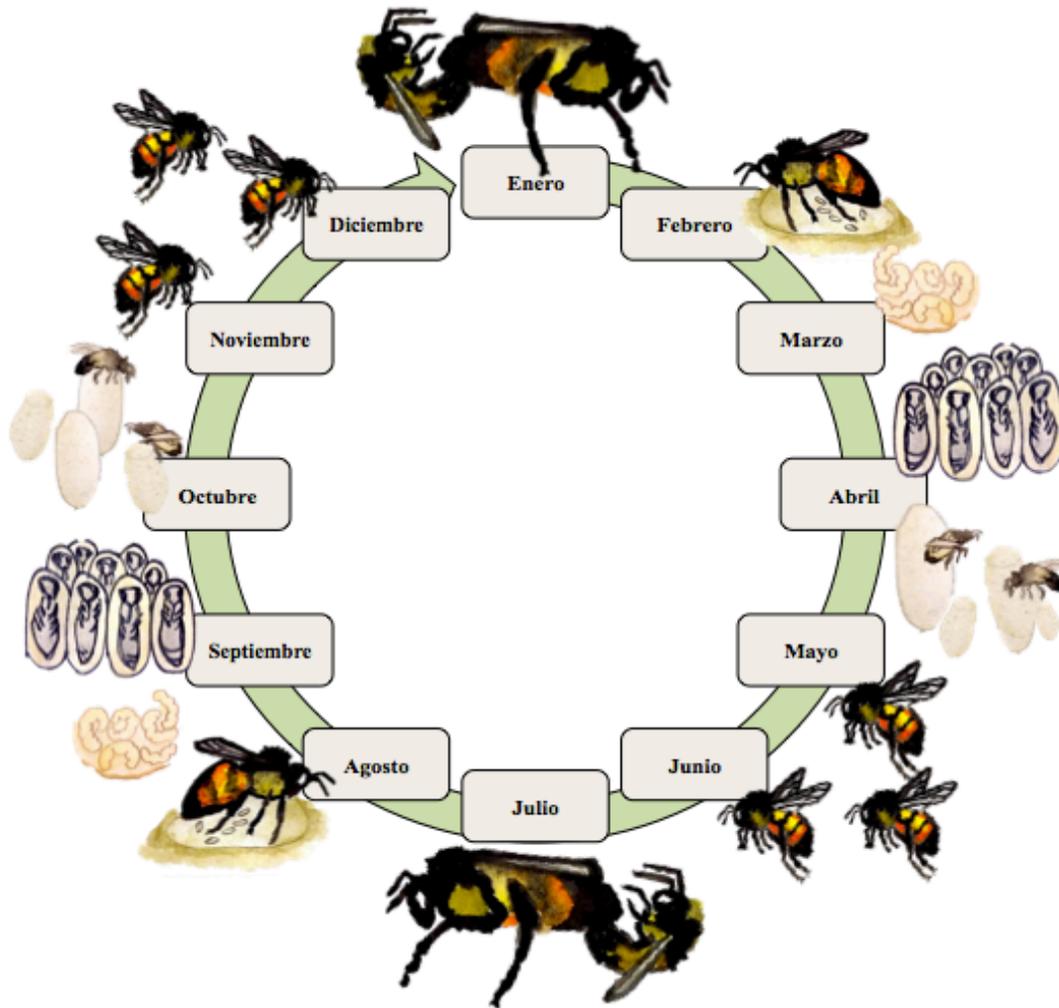


Figura 7. Calendario circular del ciclo productivo del abejorro *Bombus ephippiatus* en cautiverio, en donde se muestran las etapas del ciclo de vida correspondientes con cada mes. Diseño: Martínez de Castro Dubernard Alejandra.

DISCUSIÓN

El mayor consumo de polen en las microcolonias alimentadas con polen fresco puede ser por la palatabilidad ya que los insectos tienen la capacidad de percibir sabores; se sabe que el envejecimiento del polen cambia el sabor,⁽⁶⁰⁾ sin embargo, es necesario realizar un estudio de apetencia en donde se de a escoger a los abejorros para comprobar esta hipótesis. Estos resultados son comparables con los resultados de Ribeiro *et al* 1996⁽⁶¹⁾ quienes comparan un polen deshidratado y uno fresco para el desarrollo de colonias en el abejorro *B. terrestris*. En ese caso las reinas alimentadas con polen fresco desarrollaron colonias más grandes, es decir, produjeron más individuos, y comenzaron la postura antes que las alimentadas con polen deshidratado. Esto es comparable ya que el polen fresco con un año de almacenamiento utilizado en este experimento tenía mucho menos humedad que el polen fresco. La falta de humedad en el polen también afecta la textura de la superficie, por lo que probablemente esto también pudo haber afectado el consumo.⁽⁶⁰⁾ El polen congelado por mucho tiempo pierde humedad, aunque no se haya deshidratado antes de almacenar; en este estudio se demuestra que aún congelado, el polen no debe almacenarse mucho tiempo antes de darlo para consumo.

Es importante mencionar que el polen utilizado con un año de almacenamiento, funciona para la crianza de abejorros, aunque como se vio en los resultados, el crecimiento de la colonia es más lento. En este estudio no se llevó a cabo un análisis palinológico de ambos tratamientos por lo que no podemos saber de que tipo de plantas provenían. Por otra parte, tampoco se llevó a cabo un análisis de los aminoácidos presentes en estos dos tipos de polen; en estudios que se han realizado, se ha visto que hay mayor consumo y mejor

desarrollo de microcolonias por la presencia de aminoácidos esenciales y la concentración de esteroides.⁽⁶²⁻⁶⁵⁾ Una mejor calidad de polen acelera la postura de la reina y la maduración de las larvas en microcolonias.⁽⁶⁴⁾ La aceleración en la postura de huevos en las microcolonias que comenzaron antes el nido probablemente se deba a una maduración más rápida de las ovarias de la obrera dominante, la cual pudo ser estimulada por una dieta rica en aminoácidos. Por lo tanto, los resultados de este trabajo no se le pueden atribuir por completo a la humedad presente en el polen y sería necesario considerar estos factores y su influencia en el desarrollo de microcolonias. De acuerdo a experimentos previos, las microcolonias son representativas análogas de una colonia completa,^(58,66) por lo que es probable que el efecto con respecto a la alimentación que hubo en las microcolonias pueda observarse en nidos completos de abejorros. En experimentos realizados con colonias completas de *B. terrestris*, el consumo de jarabe y polen en la colonia tuvo una correlación positiva con la producción de obreras,⁽⁶⁷⁾ lo cual se observó también en este experimento con respecto a la producción de zánganos en las microcolonias.

Para la crianza de abejorros en cautiverio, pueden ser útiles los resultados de este estudio, ya que al iniciar postura días antes como es el caso de las microcolonias alimentadas con polen de un día de almacenamiento, y al producir más individuos en menos tiempo, los costos de producción disminuyen, pues comercialmente, las colonias que salen a invernadero para polinizar deben ser colonias a partir de cincuenta obreras.⁽⁵⁾

Las microcolonias por otra parte, funcionan también como fuente de producción de zánganos, con lo que se puede programar el tiempo en el que se desea tener machos, y se puede llevar a cabo una selección genética ocupando menos espacio, alimento y tiempo,

pues son menos abejas las necesarias para producirlos y criarlos.

En cuanto a aspectos reproductivos, una aportación importante de este trabajo consistió en completar el ciclo de crianza del abejorro nativo *Bombus ephippiatus* bajo condiciones controladas, lo cual se ha buscado desde hace tiempo. El porcentaje de fecundación obtenido, en apariencia no fue alto, aunque esto no se puede saber pues aún no se conocen los porcentajes en condiciones naturales u otros trabajos al respecto y deben de probarse nuevas estrategias para lograr porcentajes mayores en el futuro. Este éxito probablemente se debe a la edad de los zánganos y reinas utilizados en el experimento. En este sentido, en el año 2003, Fuentes-Montemayor y Cuevas,⁽⁴⁷⁾ realizan cruces en jaulas de vuelo con individuos de *Bombus ephippiatus*, sin embargo, se utilizaron reinas y zánganos más jóvenes (2-5.5 días de edad), es probable que a eso se deba que ninguna reina de ese estudio tuvo descendencia diploide después del apareamiento. Los datos obtenidos en este estudio, sugieren que la madurez sexual en ambos sexos llega a edades mayores a las probadas por los autores antes mencionados. Otras investigaciones realizadas con *Bombus terrestris* dicen que las reinas están listas para apareamientos a los 6 días de edad, y los machos 16 ± 7 días de edad,⁽⁶⁸⁾ esto es parecido a los hallazgos de este experimento en donde las reinas y los zánganos fueron fértiles, pues las reinas tienen una ventana desde los 7 a 21 días de edad y los machos de 4 a 19 días de edad, lo que significa que esta especie de abejorro cuenta con una ventana mas amplia de fertilidad en las condiciones de este experimento.

En cuanto a las variaciones con respecto al tiempo de apareamiento, las diferencias que existen en el número de minutos entre cada uno puede deberse al tamaño de las reinas

y los zánganos. Se han realizado estudios con el abejorro *B. terrestris* en donde se encontró que el tiempo de apareamiento es inversamente relacionado al tamaño del macho debido a que un macho más grande puede eyacular un mayor volumen de semen y terminar más rápido; por otra parte el tiempo de apareamiento está positivamente relacionado al tamaño de las reinas, y se piensa que esto se debe a que una reina más grande tiene más espacio en la espermateca, por lo que tarda más en llenarse,⁽⁶⁸⁻⁷¹⁾ pero en el caso de *Bombus ephippiatus* hacen falta estudios sobre este aspecto; en esta ocasión no se pesaron los individuos apareados.

Al comparar el tiempo de apareamiento de esta especie (135.7 ± 65.9 min.) con otras, podemos decir que en el caso de *Bombus ephippiatus* es mayor y con más variación. Para *B. terrestris* se han reportado tiempos de $36.9 \text{ min} \pm 12.1$,^(54,68) para *B. hypnorum* 20-40 min, y en el caso de *B. pratorum* hasta 60 min⁽⁷²⁾. En cuanto a especies norteamericanas se han reportado 44.7 min para *B. californicus* y 42.2 min para *B. bifarius*; menores tiempos se han visto en *B. frigidus* (10.2 min) y *B. ruficinctus* (9 min).⁽¹⁴⁾ Es importante mencionar que en la jaula de vuelo usada en este experimento existen factores ambientales que no se controlaron como velocidad del viento, temperatura, nubosidad, etc; se sabe que estos factores tienen influencia en los apareamientos de la abeja *Apis mellifera*, por lo que es probable que estos hayan afectado los apareamientos también en *Bombus ephippiatus*. Se deben realizar más estudios tomando en cuenta los factores ambientales, y también partiendo del estudio del comportamiento de *Bombus ephippiatus* en condiciones silvestres.

La reproducción tiene un alto costo energético y a esto puede deberse que los machos alimentados con polen de un día fecundaran más reinas que los alimentados con polen de

un año, ya que su consumo fue menor, aunque hacen falta también estudios de requerimientos nutricionales en esta especie. Otro factor que pudo haber afectado el mayor porcentaje de fecundación por parte de los machos alimentados con polen de un día de edad, es el tamaño de los machos, pues como se mencionó anteriormente hay evidencia de que el tamaño de los zánganos influye para que haya apareamientos exitosos.⁽⁷³⁾ Convendría en el futuro realizar una selección en cuanto al tamaño de los zánganos para probar si aumenta la cantidad de apareamientos y el porcentaje de fecundación.

Fue importante ver el ciclo completo de la especie en cautiverio para concluir que en el año se pueden lograr dos ciclos, y que su producción es perenne, ya que en este caso no existe hibernación por ser una especie tropical. En otros abejorros se ha visto que el ciclo de vida es anual, como es el caso de *B. wilmattae*.⁽⁷⁴⁾ En especies de áreas templadas como *B. terrestris* y *B. impatiens*, el ciclo es anual y aparte existe una temporada de diapausa, ausente en los abejorros tropicales como es el caso de *B. ephippiatus*; el abejorro tropical *B. atratus* también cuenta con ciclo perenne.⁽⁷⁵⁾

CONCLUSIONES

1. El uso de microcolonias puede servir como herramienta para la producción de machos de *Bombus ephippiatus*, así como evaluar calidad de dieta y otras condiciones de cría. De esta manera se puede sincronizar el nacimiento de reinas y el nacimiento de zánganos, lo que nos permite manipular el ciclo reproductivo y tener hembras y machos disponibles para apareamientos.
2. Los resultados que arroja este trabajo nos indican que conviene el uso de polen fresco con menos tiempo de almacenamiento para la producción de microcolonias, ya que se acelera la postura, la emergencia de los zánganos y el número de zánganos producidos es mayor en un 30 % aproximadamente, esto podría disminuir los costos de producción en una empresa productora de abejorros debido a que se llega a un mayor número de individuos en menos tiempo, favoreciendo que la colonia se pueda comercializar más rápido. El polen fresco con un año de almacenamiento no es inútil, ya que si hubo postura y producción de zánganos, y podría usarse en caso de escasez de polen fresco, el cual es un problema común.
3. Se logró el ciclo completo del abejorro *Bombus ephippiatus* en cautiverio, lo que abre las puertas a que en un futuro pueda comercializarse esta especie, sustituyendo así a las especies exóticas.
4. Bajo condiciones controladas se observó que el abejorro *Bombus ephippiatus* cuenta con un ciclo de seis meses, por lo que en el año se pueden lograr dos generaciones de abejorros, teniendo dos épocas de apareamientos: abril-julio y octubre-enero.
5. Es necesario buscar nuevas estrategias para la reproducción y la cría en cautiverio de

esta especie, y lograr porcentajes mayores de éxito.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis bromatológico de los dos tipos de polen utilizados para la alimentación de microcolonias.

	<p style="text-align: center;">EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR LABORATORIOS INSTITUCIONALES Laboratorio de Bromatología PROCEDIMIENTO PARA ATENCIÓN Y SERVICIOS AL CLIENTE</p>	 Laboratorios Institucionales
FT-BR03	REPORTE DE RESULTADOS	Página 1/4

Fecha: 20/noviembre/2018
R 50/18

CON ATENCIÓN A:

Nombre: Alejandra Martínez de Castro Dubernard
Dirección: ECOSUR- SCLC
Proyecto/Institución: Comparación de diferentes dietas en el desarrollo de micro colonias de abeja <i>Bombus ephippiatus</i>

MUESTRA:

Tipo de muestra: Polen	
No. muestras: 2	Análisis solicitado: Análisis químico proximal. Sodio

No. análisis: 12

FECHAS

Recepción de muestra: 8/10/18
Ejecución de ensayo: 8/10 al 21/10/18

CONDICIONES DE TRABAJO: Operación del equipo:

Condiciones ambientales: Humedad relativa entre 40-65%, T° ambiente: 16-20,5°C

- Humedad: Peso cte. de crisoles y secado de las muestras en estufa 100°C/4 horas.
- Cenizas: Peso cte. de crisoles en estufa 100°C/4 horas e incineración en mufla a 550°C/6h.

San Cristóbal . Tapachula . Chetumal
Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, San Cristóbal de las Casas, Chis.
Tel. (01 967) 674 9000, Ext. 1801. Fax (967) 678 2322
aderez@ecosur.mx

 ECOSUR	EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR LABORATORIOS INSTITUCIONALES Laboratorio de Bromatología PROCEDIMIENTO PARA ATENCIÓN Y SERVICIOS AL CLIENTE	 Laboratorios Institucionales
FT-BR03	REPORTE DE RESULTADOS	Página 2/4

- ²Proteína cruda: Digestión 100min/393°C, destilación con ác, bórico al 1% y mezcla de catalizadores, titulación con sol'n de ácido sulfúrico 0,0509N valorado.
- Grasa: Extracción con éter de petróleo 8h.
- ³Fibra cruda: Digestión ácida/alcalina en equipo Labconco y uso de crisol gooch.
- Carbohidratos por cálculo.
- Valor energético por factores.
- Minerales, digestión ácida y lectura en espectrofotómetro de Absorción Atómica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- NOM-116-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa.
- ¹NMX-F-607-NORMEX-2002. Alimentos- Determinación de cenizas en alimentos.
- ²METODO INTERNO ET-BR04. Determinación de proteínas. Referenciado en la NMX-F-608-2002.
- NMX-F-615-NORMEX-2004 Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) en alimentos.
- ³NMX-F-613-NORMEX-2003. Alimentos. Determinación de fibra cruda en alimentos.
- Simón de León. Análisis de alimentos vol.1. 1985.
- EPA Chapter three. Inorganic analytes. Revision 4. February 2007. In EPA Methods SW846.
- EPA Method 3051a. Microwave assisted acid digestion of Sediments, sludges, soils, and oils. Revision 1. February 2007. In EPA Methods SW846

San Cristóbal . Tapachula . Chetumal
 Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, San Cristóbal de las Casas, Chis.
 Tel. (01 967) 674 9000, Ext. 1801. Fax (967) 678 2322
gperez@ecosur.mx

 ECOSUR	EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR LABORATORIOS INSTITUCIONALES Laboratorio de Bromatología PROCEDIMIENTO PARA ATENCIÓN Y SERVICIOS AL CLIENTE	 Laboratorios Institucionales
FT-BR03	REPORTE DE RESULTADOS	Página 3/4

^{1,2,3} Laboratorio de Ensayo acreditado por ema a.c. en la rama de alimentos, con alcance en Determinación de cenizas en alimentos NMX-F-607-NORMEX-2002. Determinación de fibra cruda. NMX-F-613-NORMEX-2003. Determinación de proteínas. ET-BR04. Método interno. Acreditación No. A-0203-011/10. Vigente a partir del 2010-07-16.

Observaciones: Factor usado para proteína cruda 6,25. Los resultados son enviados al cliente vía e-mail en formato pdf. Sal de sodio se calcula multiplicando el valor de sodio en g x 2.54.

Analizó:
ZFB. Ma. Guadalupe Pérez Escobar

 Responsable del Laboratorio (RLBR)

Recibí original

 Firma del cliente

Nota 1 Los resultados emitidos corresponden exclusivamente a las muestras registradas en el formato FT-BR02 Solicitud y recepción o y a las condiciones en que fueron recibidas.
 Nota 2 Cuando lo solicite el cliente, el RLBR reporta el valor de incertidumbre. Parámetros que demuestren la validez de los resultados. Interpretación de resultados o la declaración de conformidad con los requisitos establecidos en NOM.
 Nota 3 El responsable del laboratorio de bromatología (RLBR) se compromete a resguardar los datos y archivos generados en este servicio y no dar acceso a ninguna persona sin previo consentimiento del cliente. Prohibida la reproducción parcial de este reporte, en caso de requerir una copia solicítela al responsable del laboratorio quien le imprimirá una copia total del mismo.

San Cristóbal . Tapachula . Chetumal
Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, San Cristóbal de las Casas, Chis.
Tel. (01 967) 674 9000, Ext. 1801. Fax (967) 678 2322
gperez@ecosur.mx



EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR

LABORATORIOS INSTITUCIONALES

Laboratorio de Bromatología

PROCEDIMIENTO PARA ATENCIÓN Y SERVICIOS AL CLIENTE



Laboratorios
Institucionales

FT-BR03

REPORTE DE RESULTADOS

Página 4/4

Hoja de resultados

Clave	Muestra	Humedad g/100g	Cenizas g/100g	Proteína cruda g/100g	Fibra cruda g/100g	Grasa g/100g	Carbohidra tos g/100g	Valor energético		Sodio mg/100g	Sodio g/100g
								Kcalorías	Kjoule		
278/18	Tratamiento 1 Villaflores, Chis	18.1896	1.9990	18.8087	3.4829	1.5223	55.9975	312.9257	1309.2811	3.3796	0.0034
279/18	Tratamiento 2 Encuentro, Chis	28.8877	1.7024	16.0583	3.1742	1.0513	49.1261	270.1989	1130.5122	2.5820	0.0026

El porcentaje es equivalente a g/100g.

Kcal: kilocalorías (1kcal equivale a 4,184 kJ). kJ: kilojoules (1 Kjoule equivale a 0,239 Kcal)

San Cristóbal . Tapachula . Chetumal
Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, San Cristóbal de las Casas, Chis.
Tel. (01 967) 674 9000, Ext. 1801. Fax (967) 678 2322
gperez@ecosur.mx

REFERENCIAS

1. **López Fábila AY.** El manejo y comercio de abejorros para la polinización de cultivos en México, un análisis desde la ecología política. Tesis de maestría. El Colegio de La Frontera Sur. 2017;1–60.
2. **Michener CD.** The bees of the world. 2nd ed. 2007. John Hopkins University Press, Baltimore.
3. **Dardón Peralta MJ,** Yurrita Obiols CL, Escobedo Kenefic N, Vázquez Soto MA. Bombus de Guatemala: Distribución, ecología y recursos alimenticios. Guatemala; 2013.
4. **Goulson D.** Bumblebees behaviour, ecology and conservation. Second. Oxford University Press; 2010.
5. **Velthuis HHW,** van Doorn A. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie.* 2006;37(4):421–51. Disponible en: <http://www.edpsciences.org/10.1051/apido:2006019>. DOI: 10.1051/apido:2006019.
6. **Williams PH,** Richardson LL, Colla SR. Bumble Bees of North America. Vol. 10, *Journal of Medical Internet Research.* 2014. Princeton University Press, Princeton.
7. **Heinrich B.** Physiology of Brood Incubation in the Bumblebee Queen, *Bombus vosnesenskii.* *Nature.* Nature Publishing Group; 1972 Sep 22;239:223. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/239223a0>. DOI: 10.1038/239137a0.
8. **Heinrich B.** Patterns of Endothermy in Bumblebee Queens , Drones and Workers. 1972;77:65–79. DOI: 10.1007/BF00696520

9. **Hobbs G.** Ecology of Species of *Bombus* Latr . (Hymenoptera : Apidae) in Southern Alberta. II. Subgenus *Bombias* Robt. The Canadian Entomologist. Febrero,1965.
10. **Alcock J,** Alcock JP. Male behaviour in two bumblebees, *Bombus nevadensis auricomus* and *B. griseicollis* (Hymenoptera: Apidae). Journal of Zoology. 1983;561–70. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1983.tb02816.x>
11. **O’Neill KM,** Evans HE, Bjostad LB. Territorial behaviour in males of three North American species of bumblebees (Hymenoptera : Apidae, *Bombus*). Canadian Journal of Zoology. 1991;69(3):604–6013. DOI: <https://doi.org/10.1139/z91-090>.
12. **Lloyd JE.** Sexual Selection : Individuality, Identification, and Recognition in a Bumblebee and Other Insects. The Florida Entomologist. 1981;64(1):89–118. DOI: DOI: 10.2307/3494603.
13. **Villalobos EM,** Shelly TE. Observations on the behavior of male *Bombus sonorus* (Hymenoptera:Apidae). Journal of the Kansas Entomological Society. 1987;60(4):541–8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1983.tb02816.x>.
14. **Foster RL.** Nestmate Recognition as an Inbreeding Avoidance Mechanism in Bumble Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/25085362%0A>. DOI: 10.230725085362.
15. **Darvill B,** Lye GC, Goulson D. Aggregations of male *Bombus muscorum* (Hymenoptera: Apidae) at mature nests. Incestuous brothers or amorous suitors?. Apidologie. 2007;38(6):518–24. DOI: 10.1051/apido:2007032.
16. **Harano K ichi,** Kubo R, Ono M. Patrolling and scent-marking behavior in Japanese bumblebee *Bombus ardens ardens* males: alternative mating tactic? Apidologie. Apidologie; 2018;49(1):120–30. DOI: 10.1007/s13592-017-0534-2
17. **Awram W.** Flight Route Behaviour of Bumblebees. Tesis de Doctorado. University of

London, London.; 1970.

18. **Bringer B.** Territorial flight of bumble bee males in the coniferous forests of the northern-most part of the Island of Öland. *Zoon*. 1973;(1):15–22.
19. **Svensson B.** Patrolling behaviour of bumble bee males (Hymenoptera, Apidae) in a sub-alpine area, Sweedish Lapland. *Zoon*. 1980;7:67–94.
20. **Haas A.** Arttpische Flugbahnen von Hummel Männchen. *Z Tierpsychol*. 1949;(31):281–307.
21. **Winter K, Adams L.** Importation of non-native bumble bees into North America: potential consequences of using *Bombus terrestris* and other non-native bumble bees for greenhouse crop pollination in Canada, Mexico, and the United States. *North*. 2006. 1-33 p. Disponible en: http://libraryportals.org/PCDL/BEEIMPORTATION_AUG2006-1.pdf.
22. **Velthuis HHW.** The historical background of the domestication of the bumble-bee, *Bombus terrestris*, and its introduction in agriculture. *Pollination Bees - Conservation Link Between Agriculture and Nature*. 2002;177–84.
23. **Macfarlane RP, Gurr L.** Distribution of bumble bees in New Zealand. *New Zealand Entomologist*. 1995;18(1):29–36. DOI: 10.1080/00779962.1995.9721999.
24. **Vergara CH.** Bee Pollination in Agricultural Ecosystems: Environmental impact of exotic bees introduced for crop pollination.. 2008;6(38):45–66. Oxford Scholarship Online.
25. **Schmid-Hempel R, Eckhardt M, Goulson D, Heinzmann D, Lange C, Plischuk S, et al.** The invasion of southern South America by imported bumblebees and associated parasites. *Journal of Animal Ecology*. 2014;83(4):823–37. DOI: 10.1111/1365-

2656.12185.

26. **Woodard SH**, Lozier JD, Goulson D, Williams PH, Strange JP, Jha S. Molecular tools and bumble bees: Revealing hidden details of ecology and evolution in a model system. *Molecular Ecology*. 2015;24(12):2916–36. DOI: 10.1111/mec.13198.
27. **Morales CL**. Introducción de abejorros (*Bombus*) no nativos: Causas, consecuencias ecológicas y perspectivas. *Ecología Austral*. 2007;17(1):51–65.
28. **Santos E**, Arbulo N, Salvarrey S, Invernizzi C. Distribución de las especies del género *Bombus Latreille* (Hymenoptera, Apidae) en Uruguay. *Revista la Sociedad Entomológica Argentina*. 2017;76(1–2):22–7. Disponible en: <https://www.biotaxa.org/RSEA/article/view/31669>. DOI: 10.25085/rsea.761203.
29. **Sachman-Ruiz B**, Narváez-Padilla V, Reynaud E. Commercial *Bombus impatiens* as reservoirs of emerging infectious diseases in central México. *Biological Invasions*. 2015;17(7):2043–53. DOI: 10.1007/s10530-015-0859-6.
30. **Murray TE**, Coffey MF, Kehoe E, Horgan FG. Pathogen prevalence in commercially reared bumble bees and evidence of spillover in conspecific populations. *Biological Conservation*. 2013;159:269–76. DOI: 10.1016/j.biocon.2012.10.021.
31. **Goulson D**, Lye GC, Darvill B, Hymenoptera KW. The decline and conservation of bumblebees. 2008;1–38. School of Biological & Environmental Sciences, University of Stirling, Stirling.
32. **Goulson D**. Impacts of non-native bumblebees in Western Europe and North America. *Applied Entomology and Zoology*. 2010;45(1):7–12. Disponible en: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/aez/2010.7?from=CrossRef>. DOI: 10.1303/aez.2010.7.

33. **Goulson D**, Rayner P, Dawson B, Darvill B. Translating research into action; bumblebee conservation as a case study. *Journal of Applied Ecology*. 2011;48(1):3–8. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2010.01929.x.
34. **Nukatsuka Y**, Yokoyama J. Environmental factors and land uses related to the naturalization of *Bombus terrestris* in Hokkaido, northern Japan. *Biological Invasions*. 2010;12(4):795–804. DOI: 10.1007/s10530-009-9483-7.
35. **Yokoyama J**, Inoue MN. Status of the invasion and range expansion of an introduced bumblebee, *Bombus terrestris*(L.), in Japan. *Appl Entomol Zool*. 2010;45(1):21–7. Available from: isi:000276579400004.
36. **Colla SR**, Packer L. Evidence for decline in eastern North American bumblebees (Hymenoptera: Apidae), with special focus on *Bombus affinis* Cresson. *Biodiversity and Conservation*. 2008;17(6):1379–91. DOI: 10.1007/s10531-008-9340-5.
37. **Gallot-Lavallée M**, Schmid-Hempel R, Vandame R, Vergara CH, Schmid-Hempel P. Large scale patterns of abundance and distribution of parasites in Mexican bumblebees. *Journal of Invertebrate Pathology*. Elsevier Inc.; 2016;133:73–82. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2015.12.004>. DOI: 10.1016/j.jip.2015.12.004.
38. **Fuentes Montemayor E**, Madrid Cuevas A. Biología de *Bombus ephippiatus* Say (Hymenoptera, Apidae). Tesis de Licenciatura. 2003; Universidad de las Américas-Puebla. Escuela de Ciencias. Departamento de Química y Biología.
39. **Chavarría-villaseñor G**. Systematic and Behavior of the Neotropical Bumble Bees (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*). Tesis de doctorado. 1996. Harvard University. Cambridge, Massachusetts.
40. **Labougle JM**. *Bombus* of Mexico and Central America (Hymenoptera, Apidae).

- 1990;54(3):35–73.
41. **Llorente Torres MDM.** Biología y métodos de cría de *Bombus ephippiatus* Say. 2005; Tesis de licenciatura. Universidad de las Américas-Puebla. Escuela de Ciencias. Departamento de Química y Biología.
 42. **Laverty TM,** Plowright R c. Comparative bionomics of temperate and tropical bumble bees with special reference to *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). The Canadian Entomologist. 1985;117(4):467–474. DOI: 10.4039/Ent117467-4.
 43. **Duennes MA,** Lozier JD, Hines HM, Cameron SA. Geographical patterns of genetic divergence in the widespread Mesoamerican bumble bee *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). Molecular Phylogenetics and Evolution. Elsevier Inc.; 2012;64(1):219–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2012.03.018>. DOI: 10.1016/j.ympev.2012.03.018.
 44. **Esquivel Núñez E.** Comparación de la eficiencia polinizadora del abejorro *Bombus ephippiatus* respecto a otros métodos de polinización en cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) bajo casa-sombra en el sur de Chiapas. 2012. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UNAM. Disponible en: <http://bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000054634>.
 45. **Vergara CH,** onseca-Buendía P. Pollination of greenhouse tomatoes by the Mexican bumblebee *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). Journal of Pollination Ecology. 2012;7(0):285–291. Disponible en: [http://www.pollinationecology.org/index.php?journal=jpe&page=article&op=view&path\[\]=163%5Cnhttp://www.pollinationecology.org/index.php?journal=jpe&page=article&op=download&path\[\]=163&path\[\]=41](http://www.pollinationecology.org/index.php?journal=jpe&page=article&op=view&path[]=163%5Cnhttp://www.pollinationecology.org/index.php?journal=jpe&page=article&op=download&path[]=163&path[]=41). DOI: <http://dx.doi.org/10.26786/jpe.v7i0.163>.

46. **Torres Ruiz A.** Abejorros nativos de México como polinizadores manejados. 2013;43. Disponible en: <http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/1747/1/CD100216.pdf>. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales.
47. **Fuentes Montemayor E,** Madrid Cuevas A. Biología de *Bombus ephippiatus* Say (Hymenoptera, Apidae). 2003. Tesis de licenciatura. UDLAP.
48. **García Bullé Bueno F.** 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). 2016; Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM
49. **Pelletier L,** McNeil JN. The effect of food supplementation on reproductive success in bumblebee field colonies. *Oikos*. 2003;103(3):688–94. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2003.12592.x.
50. **Pomeroy N,** Plowright RC. Maintenance of bumble bee colonies in observation hives (hymenoptera: Apidae). *The Canadian Entomologist*. 1980;112(3):321–6. DOI: 10.4039/Ent112321-3.
51. **Evans E,** Burns I, Spivak M. Befriending bumblebees: a practical guide to raising local bumble bees. 2007. University of Minnesota.
52. **Plowright RC,** Jay SC. Rearing Bumble Bee Colonies in Captivity. *Journal of Apicultural Research*. 2016;8839. DOI: 10.1080/00218839.1966.11100149.
53. **Estoup A,** Scholl A, Pouvreau A, Solignac M. Monoandry and polyandry in bumble bees (Hymenoptera; Bombinae) as evidenced by highly variable microsatellites. *Molecular Ecology*. 1995;4(1):89–94. DOI: 10.1111/j.1365-294X.1995.tb00195.x.
54. **Röseler P.** No Die Anzahl Spermien im Receptaculum seminis Hummelko "niginnen

- (Hymenoptera, Apidae, Bombinae). *Apidologie*. 1973;4:267–74.
55. **Hefetz A**, Grozinger CM, Padilla M, Amsalem E, Altman N, Hefetz A, et al. Chemical communication is not sufficient to explain reproductive inhibition in the bumblebee *Bombus impatiens*. *Royal society open science*. 2016; DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160576>.
56. **Huth-Schwarz A**, León A, Vandame R, Moritz RFA, Kraus FB. Mating frequency and genetic colony structure of the neotropical bumblebee *Bombus wilmattae* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*. 2011;42(4):519–25. DOI: 10.1007/s13592-011-0038-4.
57. **Regali A**, Rasmont P. New bioassays to evaluate diet in *Bombus terrestris*. *Apidologie*. 1995;26(L):273–81. DOI: 10.1051/apido:19950401.
58. **Dance C**, Botías C, Goulson D. The combined effects of a monotonous diet and exposure to thiamethoxam on the performance of bumblebee micro-colonies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Elsevier Inc.; 2017;139:194–201. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.041>. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.01.041.
59. **García E**. Modificaciones al sistema de la clasificación climática de Köppen [Internet]. 5ta ed. Reyna Trujillo T, editor. Cd. de México, México: Instituto de Geografía-UNAM; 2004. 74 p. Disponible en: http://www.igeograf.unam.mx/sigg/utilidades/docs/pdfs/publicaciones/geo_siglo21/serie_lib/modific_al_sis.pdf
60. **Ruedenauer FA**, Spaethe J, Leonhardt SD. How to know which food is good for you: bumblebees use taste to discriminate between different concentrations of food differing

in nutrient content. J Exp Biol [Internet]. 2015;218(14):2233–40. Disponible en: <http://jeb.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jeb.118554>

61. **Ribeiro MF**, Duchateau MJ, Velthuis HHW. Comparison of the effects of two kinds of commercially available pollen on colony development and queen production in the bumble bee *Bombus terrestris* L (Hymenoptera, Apidae). Apidologie [Internet]. 1996;27(3):133–44. Available from: <http://www.apidologie.org/10.1051/apido:19960302>
62. **Moerman R**, Vanderplanck M, Fournier D, Jacquemart AL, Michez D. Pollen nutrients better explain bumblebee colony development than pollen diversity. Insect Conservation and Diversity. 2017;10(2):171–9. DOI: 10.1111/icad.12213.
63. **Vanderplanck M**, Moerman R, Rasmont P, Lognay G, Wathelet B, Wattiez R, et al. How does pollen chemistry impact development and feeding behaviour of polylectic bees? PLoS One. 2014;9(1). 10.1371/journal.pone.0086209.
64. **Moerman R**, Vanderplanck M, Roger N, Declèves S, Wathelet B, Rasmont P, et al. Growth rate of bumblebee larvae is related to pollen amino acids. Journal of Economic Entomology. 2015;109(1):25–30. DOI: 10.1093/jee/tov279.
65. **Vaudo AD**, Patch HM, Mortensen DA, Tooker JF, Grozinger CM. Macronutrient ratios in pollen shape bumble bee (*Bombus impatiens*) foraging strategies and floral preferences. Proceedings of the National Academy of Science. 2016;113(28):E4035–42. Disponible en: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1606101113>. DOI: 10.1073/pnas.1606101113.
66. **Tasei J-N**, Aupinel P. Validation of a Method Using Queenless *Bombus terrestris* Micro-Colonies for Testing the Nutritive Value of Commercial Pollen Mixes by

Comparison with Queenright Colonies. *J Econ Entomol.* 2008;101(6):1737–42.
Disponibile en: <https://academic.oup.com/jee/article-lookup/doi/10.1603/0022-0493-101.6.1737>

67. **Rotheray EL**, Osborne JL, Goulson D. Quantifying the food requirements and effects of food stress on bumble bee colony development. *J Apic Res* [Internet]. Taylor & Francis; 2017;56(3):288–99. DOI: 10.1080/00218839.2017.1307712.
68. **Duvoisin N**, Baer B, Schmid-Hempel P. Sperm transfer and male competition in a bumblebee. *Anim Behav.* 1999;58(4):743–9. DOI: 10.1006/anbe.1999.1196.
69. **Amin MR**, Kwon YJ, Suh SJ. Photoperiodic influence on the body mass of bumblebee, *Bombus terrestris* and its copulation duration. *Journal of Applied Entomology.* 2007;131(8):537–41. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2007.01162.x.
70. **Duchateau MJ**, Mariën J. Sexual biology of haploid and diploid males in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux.* 1995;42(3):255–66. DOI: 10.1007/BF01240420.
71. **Duchateau MJ**, Hoshiba H, Velthuis HHW. Diploid males in the bumble bee *Bombus terrestris* Sex determination, sex alleles and viability. *Entomology Experimentalis et Applicata.* 1994;71(3):263–9. DOI: 10.1111/j.1570-7458.1994.tb01793.x.
72. **Van Honk CGJ**, Velthuis HHW, Roseler PF. A sex pheromone from the mandibular glands in bumblebee queens. January 1978. *Comparative and General Pharmacology.* :838–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01939651>
73. **Amin MR**, Bussière LF, Goulson D. Effects of Male age and Size on Mating Success in the Bumblebee *Bombus terrestris*. *Journal of Insect Behaviour.* 2012;25(4):362–74.
74. **Huth-Schwarz A**, León A, Vandame R, Moritz RFA, Kraus FB. Workers dominate

male production in the neotropical bumblebee *Bombus wilmattae* (Hymenoptera: Apidae). *Frontiers in Zoology*. 2011;8:1–7. DOI: 10.1186/1742-9994-8-13.

75. **Gonzalez VH**, Mejia A, Rasmussen C. Ecology and Nesting Behavior of *Bombus atratus* Franklin in Andean Highlands (Hymenoptera: Apidae). *Journal Hymenoptera Research*. 2004;13(2):28–36. DOI: 10.5962/bhl.part.19214.