

Universidad Nacional

Sistema de Estudios de Posgrado (SEPUNA)

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)

Maestría en Apicultura Tropical (MAT)

Cantidad de alimento requerida por una colonia de *Bombus ephippiatus* durante las etapas de su desarrollo y el comportamiento de alimentación de las obreras jóvenes

Laurens van Veen van der Plaats

Heredia, Agosto, 2021

Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudio de Posgrado de la Universidad Nacional. Heredia. Costa Rica.

2021

Tutor

M.Sc. Natalia Fallas Matamoros

M.Sc. Eduardo Umaña Rojas

Asesores

M.Sc. Eduardo Herrera Gonzales

Este trabajo se realizó bajo es auspicio del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), de la Universidad Nacional.

2021

Agradecimientos

A mis padres por su apoyo incondicional.

A los profesores, asistentes y administrativos del Centro de Investigaciones Apícolas, que me ayudaron siempre que lo necesité.

Al profesor Eduardo Herrera Gonzáles que con su guía, colaboración y trabajo en equipo se hizo posible este estudio.

Al profesor Mario Gallardo por su apoyo y colaboración con el estudio.

Resumen

Costa Rica es un país con una diversidad de abejorros que en gran parte no ha sido estudiada. Estas abejas tienen mucho potencial para ser polinizadores de nuestros cultivos en vez de importar especies exóticas. Con el fin de explorar esta alternativa en este estudio se ha investigado la cantidad de alimento requerida por colonias de *Bombus ephippiatus* durante las diferentes etapas su desarrollo en condiciones de laboratorio. Se demuestra que es posible criar esta especie en un espacio confinado con condiciones controladas de temperatura y humedad obteniendo como resultado un consumo promedio total para el desarrollo hasta la fase de producción de reinas y zánganos de 2680 ± 997 ml de jarabe de azúcar y 499 ± 257 gramos de polen (N=6). Además, desde la captura de la reina para llegar a un tamaño comercial de las colonias con aproximadamente 50 obreras se dura 88 ± 17 días con un consumo de 471 ± 158 ml de jarabe y 51 ± 11 gramos de polen. Para la fase cuando la colmena tiene 50 obreras hasta el inicio de producción de reinas se ha durado aproximadamente 44 días, obteniendo colmenas con un tamaño de 265 individuos en promedio. Se logró demostrar una correlación altamente significativa entre el consumo de polen ($R^2=0.75$) y el consumo de jarabe de azúcar ($R^2=0.69$) y el tamaño de las colonias.

Índice

Resumen	ii
Lista de cuadros	iv
Lista de figuras	iv
Introducción	1
Justificación	2
Objetivo general	2
Objetivos específicos	2
Hipótesis	3
Pregunta de investigación	3
MARCO TEORICO	
Especies de <i>Bombus</i> en Costa Rica	3
Importación de especies exóticas de <i>Bombus</i>	3
Importancia de uso de <i>Bombus</i> nativos para la polinización	4
Alimentación de los <i>Bombus</i>	4
Perspectivas para el uso de <i>B. ephippiatus</i>	5
Taxonomía de los <i>Bombus</i>	5
<i>Bombus ephippiatus</i>	6
Ciclo de vida de los <i>Bombus</i>	7
Reproducción en cautiverio	10
La polinización en invernadero	11
Comportamiento de alimentación en obreras jóvenes	12
Metodología	13
Diseño de las cajas	13
Análisis estadístico	16
Resultados	16
Consumo de polen y jarabe de las reinas y obreras durante la fase de iniciación	17
Comportamiento de la reina y las obreras en las colonias	24
La producción de reinas y zánganos	25
Discusión	27
Conclusiones	30
Recomendaciones	31
Bibliografía	32

Lista de Cuadros

Cuadro #1. Hoja de registro de las mediciones de alimentación por colmena	15
Cuadro #2. Cantidad de alimento consumido por los abejorros entre la captura y la primera postura de la reina.	17
Cuadro #3. Cantidad de alimento consumido por los abejorros entre la primera postura de la reina y el nacimiento de la primera obrera.	18
Cuadro #4. Cantidad de alimento consumido por los abejorros entre el nacimiento de la primera obrera y el traspaso de los abejorros a una colmena grande.	19
Cuadro #5. Cantidad de alimento consumido por los abejorros entre el traspaso a la colmena grande y la colonia con una población de 50 obreras.	20
Cuadro #6. Cantidad de alimento consumido por los abejorros en el periodo entre 50 y 100 obreras.	21
Cuadro #7. Cantidad de alimento consumido por los abejorros en el periodo entre 100 obreras y la ultima fecha de recolección de datos, 02 julio.	21

Lista de Figuras

Figura #1. Reina de <i>Bombus ephippiatus</i> .	7
Figura #2. Vistas de la cría de abejorros.	8
Figura #3. Diagrama de una constructora de bolsas.	9
Figura #4. Caja de iniciación con 1 reina y su cría.	14
Figura #5. Polen en forma de rollo para alimentación.	15
Figura #6. Consumo promedio de jarabe (en ml azul) y polen (en gramos naranja). Para las colonias 4, 6, 11, 22, 24 y 30.	22
Figura #7. Consumo de jarabe en ml durante el periodo de estudio de la colonia 24	23
Figura #8. Consumo de polen en gramos durante el periodo de estudio de la colonia 24.	23
Figura #9. Nido 4 en etapa de desarrollo.	25
Figura #10. Muestra celdas de reinas y machos de la colonia 4.	26

Introducción

Los *Bombus* spp (Apidae, Bombini) pertenecen al orden Himenóptera, son de mucha importancia para los ecosistemas por que son muy efectivas para la polinización de muchas plantas, lo que contribuye a la diversidad de la flora (Fuentes & Madrid-Cuevas, 2003). Los abejorros *Bombus* spp conforman un solo género, con 15 subgéneros, y con mas de 250 especies (Williams P. , Cameron, Hines, Cederberg, & Raspmont, 2008).

La mayoría de las especies se encuentran en climas templados donde pueden ser muy abundantes. En estos climas tienen un ciclo de reproducción muy marcado guiado por las 4 estaciones del año. Las reinas que inician una nueva colonia en la primavera permanecen en una diapausa durante el otoño y el invierno. Son producidas y fecundadas durante el último ciclo de reproducción a finales del verano (Strange, 2013). En climas tropicales son menos abundantes, se encuentran principalmente en las partes elevadas por encima de los 1500 msnm y no hay muchos estudios sobre su ciclo anual, ni su biología reproductiva.

En los años 80s y 90s se empezó a dar el auge en el uso de abejorros de forma comercial para la polinización de cultivos como el chile dulce y tomate en invernaderos.

Los *Bombus* son polinizadores muy eficientes de estos cultivos porque emplean una técnica de recolecta del polen, conocido como “buzz-pollination”, produciendo una vibración con su cuerpo lo cual hace que las anteras de las flores suelten el polen. (Macior, 1974) (Buchmann, 1983).

Bombus terrestris y *Bombus impatiens* son de las principales especies que se usan para la polinización comercial. Dos de las empresas que se dedican a la crianza y exportación de *Bombus* son Koppert y Biobest (Cnaani, Schmidt-Hempel, & Schmidt., 2002).

En Costa Rica el interés comercial por especies de *Bombus* para ser utilizadas en invernaderos, principalmente para la polinización del cultivo de tomates, se ha despertado hace un poco mas de una década y como consecuencia se han importado colmenas de *Bombus impatiens*, una especie exótica lo cual conlleva un riesgo inminente de la introducción de patógenos exóticos (Zumbado & Azofeifa, 2018). De ahí la importancia y necesidad de realizar estudios dirigidos a la utilización de alguna especie nativa de *Bombus* de Costa Rica.

Justificación

Los abejorros juegan un papel importante en la polinización de cultivos, Costa Rica es un país con mucha diversidad de insectos que aportan dentro de este proceso de polinización. Los *Bombus* son un género especializado en plantas y flores de la familia “solanáceas” dentro de los que se encuentran cultivos como la papa el tomate la berenjena y muchos mas. Estas abejas al ser especializadas en este tipo de cultivos tienen un gran potencial para la polinización comercial en la agricultura. (Cerna- Chavez, et al., 2015)

La crianza, reproducción y alimentación de la especie *B. ephippiatus* no ha sido estudiada en Costa Rica por lo que es vital hacer más investigación acerca de estas abejas y potencialmente saber si pueden ser de uso comercial en la polinización de cultivos. En esta investigación se estudia la cantidad y calidad óptima del polen y néctar que requieren las colonias de esta especie durante su desarrollo en condiciones de laboratorio.

Objetivo General

- Determinar la cantidad de alimento requerida por una colonia de *B. ephippiatus* durante las diferentes etapas de su desarrollo, para un óptimo crecimiento en condiciones de laboratorio.

Objetivos específicos

- Medir la cantidad de alimento que requiere la reina para la iniciación de la postura.
- Identificar los requerimientos alimenticios de las colonias de *B. ephippiatus* para su desarrollo.
- Medir la frecuencia de la alimentación de las colonias.

Hipótesis

El consumo del jarabe y del polen de las colonias en sus diferentes etapas de desarrollo, aumenta con el crecimiento de la población.

Pregunta de investigación

¿Cual es la cantidad de alimento requerida por una colmena de *B. ephippiatus* durante las etapas de su desarrollo?

¿Que tipo de comportamiento demuestran las obreras al alimentar las larvas del nido?

Marco teórico

Especies de *Bombus* en Costa Rica

En Costa Rica se reportan 6 especies de *Bombus* (Zumbado & Azofeifa, 2018), *Bombus digressus*; raro (1500-3300 m), *Bombus mexicanus*; común (1000-1500 m), *Bombus pullatus*; común (abajo de 1500 m), *Bombus weisi*; raro (sólo un registro, a 1500 m), *Bombus ephippiatus*; abundante (arriba de 1500 m), *Bombus volucelloides*; localmente común en el Parque Internacional de La Amistad (500-2000 m).

Importación de especies exóticas de *Bombus*

Con la importación de *Bombus* no nativos existe un gran riesgo de la traída de plagas y enfermedades que no existen en el país y que pueden comprometer la salud de las poblaciones nativas de abejorros silvestres. Si las especies importadas exóticas se logran establecer en forma silvestre, pueden competir y desplazar especies de *Bombus* locales como ha sucedido en otras partes del mundo, por ejemplo, con la importación de *Bombus terrestris* en Japón (Matsumura, Yokoyama, & Washitani, 2014) y Argentina (Arbetman, Meeus, Morales, Aizen, & Smagghe, 2012). También en Chile, específicamente en Chiloé, la introducción de *B. terrestris* ha provocado un declive de hasta un 99,4% de la abundancia relativa del abejorro nativo *B. dahlbomii*, y de cerca de un 40% de la *A. mellifera* silvestre (Smith-Ramirez, et al., 2018).

Entre los riesgos que conlleva la introducción de especies no nativas están:

- Usurpación y competencia de nidos (competencia de recursos).
- Cópula de las reinas con otras especies e hibridación.
- Competencia con especies nativas.

- Agotamiento de recursos naturales.
- Solapamiento de nichos ecológicos.
- Afectación de la polinización de plantas nativas.
- Se favorece la polinización de plantas no nativas.
- Transmisión de enfermedades no endémicas (Arbetman, Meeus, Morales, Aizen, & Smagghe, 2012).

Importancia de uso de *Bombus* nativos para la polinización

Por los riesgos previamente señalados con la importación de *Bombus* exóticos, es importante considerar el uso de una especie nativa para la polinización de cultivos. En diversas partes del mundo como Europa y Brasil se ha prohibido la importación de especies no nativas por las consecuencias que ha traído. Otro ejemplo muy claro es de México donde se importaba mucho la especie *Bombus impatiens* pero debido a los problemas ecológicos algunos institutos de investigación en México han criado colonias de *B. ephippiatus* que es una de sus especies nativas (Velthuis & van Doorn, 2006).

Alimentación de los *Bombus*

En su hábitat natural los abejorros vuelan a las flores colectando polen y néctar. En abejorros, según especies hay dos formas como suministran el alimento a sus larvas, por el sistema de alimentación “constructoras de bolsas” o “almacenadoras de polen”.

Los *Bombus* que son constructoras de bolsas se caracterizan por hacer un pote sin fondo al lado de las larvas donde las obreras depositan la mezcla de polen y néctar (Fuentes & Madrid-Cuevas, 2003). Los otros *Bombus*, no construyen potes para almacenar el alimento de la cría sino, alimentan a la cría, regurgitando el polen y el néctar directamente. La especie *B. ephippiatus* pertenece a las almacenadoras de polen (Fuentes & Madrid-Cuevas, 2003).

Antes de iniciar su actividad ovipositora las reinas deben consumir gran cantidad de polen para activar sus ovarios. Estudios muestran que es importante que el polen provenga de diferentes flores para que contenga los aminoácidos esenciales para la formación de huevos de calidad y que las larvas se desarrollen adecuadamente

(Moerman R. , Vanderplanck, Fournier, Jacquemart, & Michez, 2017) (Moerman R. , et al., 2015)

Para *Bombus terrestris* se ha estudiado el consumo de polen y azúcar en jarabes a nivel individual y para el desarrollo de colmenas completas. Para establecer un nido pequeño con 5 obreras se necesita hasta 6 g de polen (equivalente a 1g de aminoácidos) y 50 g de azúcar. A lo largo de su vida, consumieron en exceso 176 g de polen (31 gramos de aminoácidos) y 1186 g de azúcar. La relación en consumo entre polen y néctar mostro un ratio muy constante de 1g de proteína por 43 g de azúcar aproximadamente. Para colmenas que puedan volar libremente el consumo de azucares es aun mayor (Rotheray, Osborne, & Goulson, 2017).

Perspectivas para el uso de *B. ephippiatus*

Para ofrecer a los agricultores una especie de *Bombus* que pueda polinizar tomate, chile dulce y otros cultivos en invernaderos, se prefiere el uso de una especie nativa, para evitar los problemas asociados con la introducción de una especie exótica. De las 6 especies presentes en Costa Rica, *B. ephippiatus* presenta características esenciales para poder ser utilizado con éxito en la polinización y ser criado exitosamente (Macior, 1974), (Buchmann, 1983).

1. Forman grandes colonias de entre 300 y 500 obreras, lo cual es ideal para la polinización de cultivo, porque entre mas individuos en una colonia, mas flores pueden polinizar en menos tiempo (Llorente-Torres, 2005).
2. Esta especie tiene la característica de almacenar alimento en potes, una característica ideal para su crianza porque elimina la necesidad de una alimentación constante lo cual seria imposible de realizar por parte del apicultor. A nivel comercial se crían abejorros del grupo de constructoras de bolsas exclusivamente por esta razón (Fuentes & Madrid-Cuevas, 2003).

Taxonomía de los *Bombus*

La familia de las abejas sociales (Apidae) se divide en 4 tribus: Euglosini, Apini, Bombini, Meliponini. Los abejorros pertenecen a la tribu Bombini y las más de 250 especies que se conocen en el mundo pertenecen a un solo género *Bombus*, dividido en 38

subgéneros. Son especialmente abundantes en regiones de clima templado y ecosistemas alpinos. La mayoría construyen nidos y son consideradas eusociales primitivos (Michener C. , 2007).

Recientemente se ha considerado la división del género *Bombus* en 38 subgéneros innecesariamente complicada y una nueva clasificación con solo 15 subgéneros ha recibido un soporte muy generalizado por los taxónomos (Williams P. H., Cameron, Hines, Cederberg, & Rastmont, 2008).

En México y Centroamérica existen 7 subgéneros que albergan a 19 especies (Fuentes Montemayor & Madrid, 2003).

Bombus ephippiatus

Bombus ephippiatus (figura 1) pertenece al subgénero *Pyrobombus* (Williams P. , 1998), y es una de las 6 especies que se encuentran en Costa Rica. Esta especie se distribuye desde México hasta Colombia (Abrahamovich, Diaz, & Morrone, 2004), principalmente en zonas de altura entre 1700 y 3500 metros.

Son abejorros de un tamaño medianamente grande con reinas que miden de 1.6 a 2.0 cm, mientras que las obreras tienen un tamaño entre 1.0 y 1.5 cm similar a los machos, muestran un patrón de coloración de franjas amarillas, anaranjadas y negras. En sus costados, en los tergitos 3 a 5 tienen pelos rojizos. En México se han encontrado reinas durante casi todo el año lo cual puede ser una indicación que esta especie no tiene una diapausa como es el caso para la mayoría de las especies de climas fríos (Fuentes Montemayor & Madrid, 2003). En este mismo país han encontrado colonias con mucha actividad durante todo el año y encontraron que el tamaño de la colonia varía con la altitud. El tamaño de una colonia promedio a 2500m de altitud es de 400 individuos, mientras que en altitudes menores de solamente 150 abejorros (Fuentes Montemayor & Madrid, 2003).



Figura 1. Reina de *Bombus ephippiatus*.

Fuente: (Muñoz. A, Razo. A, 2018).

Ciclo de vida de los *Bombus*

Los nidos de los abejorros son completamente diferentes a lo que se conoce tradicionalmente en colmenas de las abejas. La mayoría de las especies de *Bombus* buscan nidos de roedores abandonados en el cual establecer sus colonias. Dentro de estos nidos hay material vegetal seco que ayuda a mantener la temperatura. Algunas especies buscan sitios para hacer su nido cerca de la superficie y otras prefieren un sitio para el nido a más profundidad. Dentro de estos nidos construyen potes de cera donde almacenan polen, miel y huevos o larvas. Dentro del nido los abejorros cubren la parte de arriba con una capa de cera para protegerlo. La cera proviene de los estrenitos, inicialmente de la reina y luego de las obreras (Michener C. , 1974).

La reina después de haber hibernado empieza a alimentarse lo más que pueda y también colecta alimento que guarda en potes dentro del nido. Una vez que la reina tiene una reserva de alimento (una bola de polen) ésta pone ocho o mas huevos encima la bola de polen. A medida que la reina inicialmente y después las primeras obreras recolectan polen, la reina aumenta su oviposición en diferentes bolitas de polen que se cubren con una capa de cera. De los huevos nacen las larvas que se transforman en pupas y luego adultas (Goulson, 2010; Michener C. , 1974), para una metamorfosis completa.

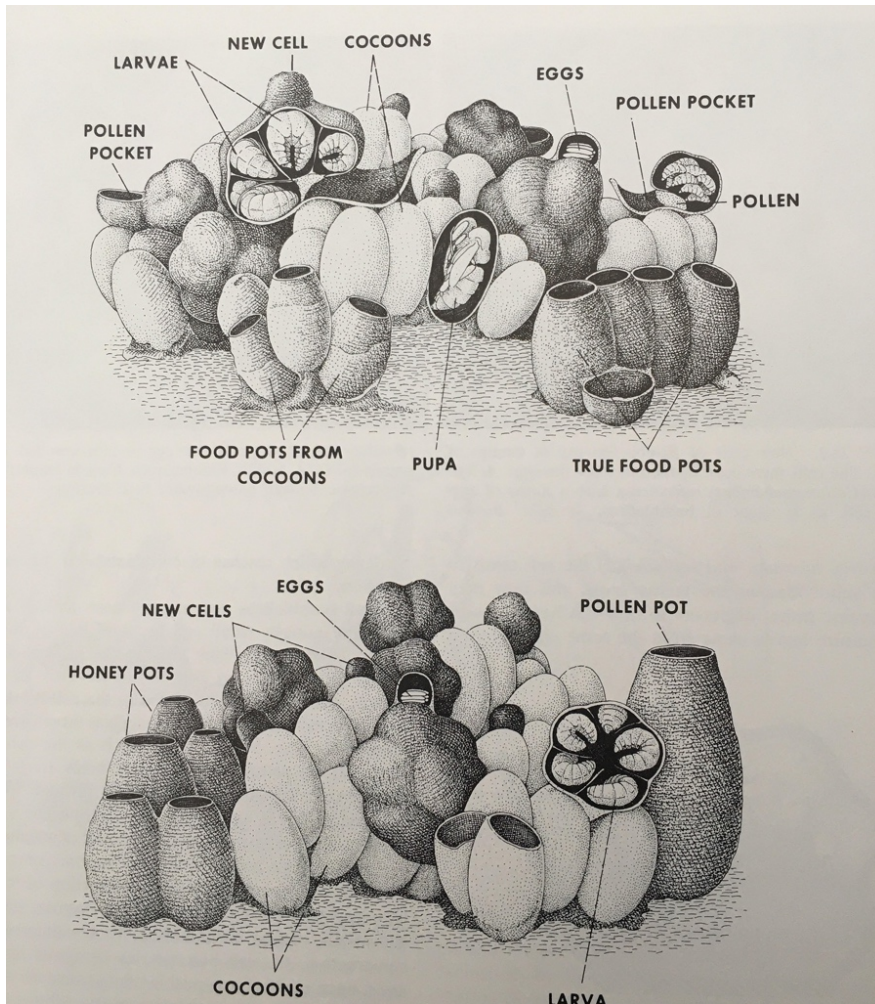


Figura 2. Vistas de la cría de abejorros

Fuente: (J.M.F. de Camargo tomado de Michener C, 1974). Constructoras de bolsas (arriba) y almacenadoras de polen (abajo) donde podemos observar las crías y los métodos de alimentación a las larvas.

En algunas especies el polen es almacenado en potes construidos específicamente para tal fin (especies almacenadoras de polen) y luego este polen es transformado en alimento larval mezclado con néctar (Figura 2). En otras especies dentro de la celda donde varias larvas pueden desarrollarse a la vez, hay pequeñas bolsas con el alimento larval. Este alimento, que consiste en polen fresco que se renueva constantemente, es para que las larvas lo puedan acceder fácilmente (especies constructoras de bolsas) (Michener C. , 1974; Goulson, 2010).

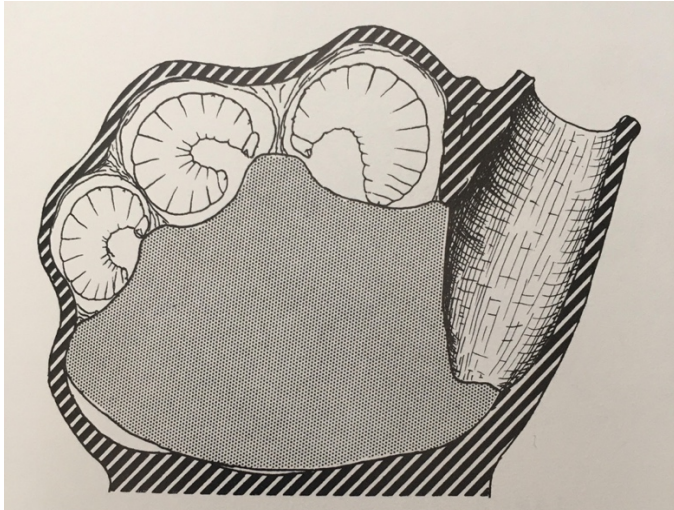


Figura 3. Diagrama de una constructora de bolsas.

Fuente: (Michener C. , 1974). En esta celda podemos observar como varias larvas dentro de una misma celda se pueden alimentar de la mezcla de polen y néctar en el fondo de su celda.

Es importante tomar en cuenta que para poder criar *Bombus* en cautiverio con éxito se necesitan especies almacenadoras de polen, porque las constructoras de bolsas necesitan polen fresco varias veces por día lo cual es muy impráctico para su manejo. A las almacenadoras de polen se pueden alimentar cada 2 o 3 días, porque por sus características se alimentan desde los pots donde el polen esta almacenado (Fuentes Montemayor & Madrid, 2003).

Después de la primera fase de postura la reina no vuelve a salir del nido, sino que son las obreras las que colectan el polen y néctar para las necesidades de la colmena. La reina se queda dentro del nido para poner los huevos de la próxima generación y para calentar la cría (Michener C. , 1974).

La reina produce varias generaciones dependiendo de la especie, hasta que la colonia alcanza su tamaño máximo, en el caso de *Bombus ephippiatus* hasta más de 600 abejorros (Fuentes Montemayor & Madrid, 2003). Una vez que la colmena se ha desarrollado por completo, la reina inicia primero la producción de zánganos y

posteriormente también gynes. En esta fase se empieza a dar mucha agresión por parte de las obreras hacia la reina. Puede llegar un momento que las obreras agresivas matan a la reina, una vez que tienen sus ovarios desarrollados e inician la producción de zánganos. Los zánganos y las gynes salen de la colmena y aparean con individuos de otras colonias. Una vez fecundadas las gynes se alimentan con néctar y polen antes de entrar en hibernación o diapausa (Michener C. , 1974).

Reproducción en cautiverio

Las especies mas utilizadas en criaderos son *Bombus terrestris* y *Bombus impatiens*, son especies de clima templado y no nativos del Neotrópico (Velthuis & van Doorn, 2006). Las técnicas de su crianza y reproducción incluyendo detalles sobre la temperatura, humedad e iluminación son bien conocidas, pero guardadas como secretos de las empresas comerciales. Para estas especies algunos estudios contienen información relevante sobre su reproducción, producción de reinas y machos, apareamiento y requerimientos nutricionales (Velthuis & van Doorn, 2006). Para especies tropicales la información es muy escasa y se desconoce generalmente sobre su ciclo de vida y biología en general. Solamente existen algunos estudios bajo condiciones experimentales o tesis de graduación.

Para la reproducción en cautiverio es importante cumplir con una serie de requerimientos que necesitan los *Bombus* para mejores resultados. Es necesario acondicionar el cuarto donde se van a criar los abejorros, se debe mantener la temperatura del cuarto a 30 grados Celsius y con una humedad relativa de 55%. Para no interferir con el desarrollo de la colonia, se trabaja con las abejas en un cuarto oscuro y a la hora de hacer alimentación o revisión de colmenas se usa una luz roja que es invisible para los abejorros (Fuentes Montemayor & Madrid, 2003).

Las colonias de *B. ephippiatus* se pueden iniciar con reinas fecundas, capturadas en las flores en la época que abundan. En Costa Rica se encuentran en los meses de diciembre y enero. Una vez capturadas las reinas se instalan en cajas de iniciación y se proveen cada 2 días con un alimento que consiste en polen fresco colectado con colmenas de *Apis mellifera* mezclado con un jarabe de azúcar al 50%, hasta que se forma una masa moldeable (Plowright & Jay, 2015).

Para estimular a las reinas a iniciar la ovoposición, hay dos métodos que se pueden utilizar. Un método es introduciendo dos reinas fecundas en la caja de iniciación, esto genera mucha agresión entre las dos reinas lo que generalmente termina con la muerte de una. La otra reina iniciará la ovoposición, la desventaja de este método es la pérdida por lo menos de la mitad de las reinas. El otro método consiste en juntar unas obreras jóvenes de *A. mellifera* con una reina de *Bombus*, para que ésta inicie más fácilmente la ovoposición. También es conocido que se puede colocar unas obreras recién nacidas de la misma especie de *Bombus* en la misma jaula con la reina (Plowright & Jay, 2015; Velthuis & van Doorn, 2006).

La reina inicia la ovoposición sobre la bolita de polen introducida en la caja de iniciación y una vez que nacen las primeras 8 a 12 obreras la pequeña colonia es transferida con mucho cuidado a una caja más grande en donde puede alcanzar su pleno desarrollo. El tiempo de desarrollo de huevo a obrera para *B. ephippiatus* es de 25.7 días y en caso de los machos 27.4 días (Fuentes Montemayor & Madrid, 2003). El desarrollo de la colonia a su tamaño máximo dura varios meses después de que la primera obrera emerge de la celda. Para *Bombus impatiens* este periodo es de aproximadamente 2 meses (Cnaani, Schmid-Hempel, & Schmidt, 2002), y las colonias alcanzaron un número de obreras de 375 ± 108 .

La polinización en invernadero

En Europa y Estados Unidos se usan invernaderos para la producción de frutas y verduras, los invernaderos permiten regular la temperatura para poder producir estas mismas en todo tipo de climas. Para producir las frutas y verduras es necesario polinizar las flores de las plantas, durante mucho tiempo este proceso se hacía manualmente, con el tiempo se introdujeron los abejorros como polinizadores ideales en invernaderos, principalmente para las plantas del orden solanáceas dentro de las que se encuentran el tomate, la berenjena, los chiles y otros (Vergara & Fonseca, 2012).

Hoy en día en el mundo se utilizan más de un millón de colonias de *Bombus* para la polinización en invernaderos, especialmente para el cultivo de tomate. A nivel mundial aproximadamente el 95% de todas las colonias de abejorros son utilizadas para la

polinización de este cultivo en invernaderos, se utilizan hasta 50 colonias de abejorros por hectárea (Velthuis & van Doorn, 2006). Los abejorros son capaces de hacer polinización por vibración (buzz pollination), produciendo vibraciones con sus músculos de vuelo provocando que el polen se desprenda de las anteras (Wahengbam, Raut, Satinder, & Banu, 2019). Es el tipo de polinización que requieren las flores del tomate. Anterior a la utilización de colonias de *Bombus* en invernaderos para polinizar el tomate, se hacía la polinización a mano con aparatos vibradores. Gracias a los *Bombus* se aumentó mucho la eficiencia y con ello la producción (Vergara & Fonseca, 2012). En menor cantidad se utilizan los abejorros para polinizar chile dulce, berenjena, melón, pepino, fresas, arándanos, manzanas, peras, entre otros (Velthuis & van Doorn, 2006).

En México se ha generado alguna experiencia con la polinización en invernaderos con la especie *B. ephippiatus*. En un experimento de Vergara (et al., 2012) compararon la polinización de tomate con *B. ephippiatus* con polinización manual, polinización por vibración y no polinización. Encontraron que las frutas producidas con la polinización de *B. ephippiatus* tenían un mayor tamaño, contenían más semillas y eran mas dulces que con las tres otras técnicas empleadas (Vergara & Fonseca, 2012).

Los productores de tomate en invernadero prefieren la utilización de *Bombus* para la polinización porque por un lado obtienen una mayor producción de mejor calidad y por otro lado significa una reducción grande en el costo de mano de obra al no tener que recurrir a la polinización manual por vibración (Velthuis & van Doorn, 2006; Vergara & Fonseca, 2012).

Comportamiento de alimentación en abejas obreras jóvenes

Las larvas de los *Bombus* son alimentadas por la reina una vez que empieza la postura en el nido, este trabajo es temporal hasta que las primeras obreras emergen de las celdas. Las obreras toman la función de alimentación de las larvas hasta el momento que estas entran en estado de pupa. En *Bombus terrestris* se ha estudiado el comportamiento de las abejas obreras y su comportamiento de alimentación donde se encontró una relación entre una feromona que es liberada por las larvas cuando necesitan ser alimentadas y la motivación que tienen las abejas obreras para alimentar

a las larvas. Cuando las obreras están en función de alimentación se notó un comportamiento de consumo de alimento por un periodo extendido por parte de las obreras que luego proceden a alimentar a las larvas (Smeets & Duchateau, 2001).

Metodología

El estudio de los requerimientos alimenticios del abejorro *Bombus ephippiatus*, se realiza en un cuarto con control de temperatura (30 grados) y humedad relativa (65%), en el Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT- UNA), ubicado en Lagunilla-Barreal de Heredia. Las colmenas se mantienen en este cuarto en la oscuridad y las observaciones se realizan con luz roja, invisible para los abejorros.

Las colmenas se inician con reinas, colectadas en los alrededores del volcán Barva, u otras zonas de altura en el país, en el mes de enero.

Por ser un ensayo exploratorio sin disponibilidad de datos de sobrevivencia de estas reinas en cautiverio, se colectan 30 reinas en las flores, esto aumenta la probabilidad de que se trata de reinas fecundadas. Con estas reinas se inician 30 nuevas colmenas de las cuales se seleccionan las primeras 10 donde la reina inicia la formación de un nido de cría. Las reinas que no tienen indicios de postura se liberan en el mismo lugar de donde se extraen.

Diseño de las cajas

Una vez capturadas las reinas se deben transferir a cajas de madera pequeños (cajas de iniciación) con las siguientes características: las medidas son de 9x8x5 cm. Estas cajas tienen un vidrio en frente para poder observar el comportamiento durante las primeras etapas. El piso de la caja tiene una rejilla y encima de la rejilla se coloca un pedazo de cartón donde la reina inicia la postura. En la parte posterior tiene una perforación donde entra un tubo de ensayo que funciona como bebedero.

Una vez que la colonia tenga entre 6 y 7 obreras se transfieren a cajas de madera mas grandes, tienen una medida de 28x21x8 cm. Cuentan con orificios a los lados de la caja que están cubiertos por rejillas para permitir la ventilación. La caja esta dividida en 2, una cámara mas grande que funciona como nido y esta separado por una pared con un orificio, esta segunda cámara es donde las abejas llevan sus excreciones y llevan a las

obreras muertas. Ambas paredes para entrar al nido tienen un orificio. La caja cuenta con otro orificio lateral que su unión sirve cuando la colmena se haya desarrollado aun mas y necesitan mas espacio, se usa ese orificio para conectar otra colmena y así brindar mas espacio.



Figura 4. Caja de iniciación con 1 reina y su cría. Fuente: (Llorente-Torres, 2005)

Se produce el polen fresco con 5 colmenas de *Apis mellifera* con trampas de polen de piquera. El polen que se produce en exceso se almacena en el congelador para utilizarla posteriormente.

Para determinar la cantidad de polen requerido se alimentará a las colonias con una frecuencia mínima de 3 veces por semana, el alimento se prepara mezclando una pequeña cantidad de polen fresco macerado, con un jarabe de azúcar concentración 1:1. De la masa que se obtiene se hacen pequeños rollitos los cuales se pesan en mg antes de introducirlos en las colonias y al cambiarlos cada 2 días. Conforme las colonias crecen se aumenta la cantidad de polen introducido a sus requerimientos.

La alimentación con el jarabe se hace a base de una concentración de 1 parte de azúcar por 1 parte de agua, la cual se disuelve completamente y se lleva al punto de hervir para

evitar la fermentación. Se suministra en los tubos de ensayo los cuales se miden al introducir el jarabe y cada vez que se cambia, para medir la cantidad de jarabe consumido por la reina y sus crías. Durante las alimentaciones se realizaron observaciones generales sobre el comportamiento relacionado sobre los comportamientos de calentar la cría, y el consumo de polen y jarabe.



Figura 5. Polen en forma de rollo para alimentación. Fuente: (Llorente-Torres, 2005).

Cuadro 1. Hoja de registro de las mediciones de alimentación por colmena.

Alimentación <i>Bombus ephippiatus</i>						
Fecha	Peso del alimento antes de alimentar	Peso del alimento después de 2 días	Cantidad g de jarabe se alimenta	Cantidad g de jarabe después de 2 días	Numero de abejas en la colmena	Observaciones

Análisis estadístico

Con base en la información recopilada durante las 15 semanas se realizan una serie de análisis estadísticos usando Excel para calcular los promedios, desviaciones estándar, correlaciones y porcentajes para así poder identificar posibles tendencias en la alimentación de acuerdo con el tamaño de las colonias.

Resultados

Para iniciar el estudio se colectaron un total de 30 reinas. Durante la primera fecha de colecta 07 de enero se colectaron las reinas de 1 a 9, en la segunda fecha de colecta el 15 de enero se colectaron 11 reinas para tener un total de 20 reinas y en la tercera colecta el 29 de enero se colectaron 10 reinas adicionales para tener un total de 30.

Durante la primera colecta en el campo se observaron muchos machos. De las reinas colectadas 4 sobreviven a las primeras semanas de las cuales 2 se liberaron porque nunca iniciaron un nido.

Del segundo grupo de colecta 4 tuvieron un comportamiento de inicio de postura por lo que se dejaron en sus respectivas cajas de iniciación, y se liberaron 4 de las reinas que no iniciaron un nido, y 3 de las 11 reinas murieron. Una de las reinas inició un nido, pero no contenía cría viable, entonces también fue liberada.

Seis de las reinas que no iniciaron postura se liberaron el 29 de enero, en esta misma fecha se hizo la captura de 10 reinas. De este grupo 4 iniciaron un nido 1 se liberó y 5 reinas murieron.

Entonces del total de 30 reinas capturadas 9 iniciaron un nido, 8 fueron liberadas, y 13 reinas murieron.

Consumo de polen y jarabe de las reinas durante la fase de iniciación

A todas las reinas se les dio una bolita de polen de 2 gramos para iniciar su nido, sobre esta bolita la reina inicia su postura lo cual fue posible observar para las 9 reinas con exactitud (ver cuadro 2). Adicionalmente a las reinas se les ofreció jarabe de azúcar como alimento energético, y polen.

Cuadro 2 Cantidad de alimento consumido por los abejorros entre la captura y la primera postura de la reina.

Reinas	Fecha de captura	Fecha de 1era celda	Consumo de polen en gramos	Consumo de jarabe en ml
4	07 enero	13 enero	2	2,8
6	07 enero	18 enero	2	5,1
10	15 enero	05 febrero	3,5	18,0
11	15 enero	05 febrero	4,3	19,8
22	29 enero	05 febrero	0,6	4,6
24	29 enero	08 febrero	1	6,9
25	29 enero	05 febrero	0,6	5,9
30	29 enero	05 febrero	0,6	5
Promedio		11,3 +/- 5,8	1,8 +/- 1,3	8,5 +/- 6,1

En el cuadro 2 se observa que las reinas 4, 22, 24, 25 y 30 iniciaron su nido una semana después de su captura, en el caso de las reinas 6, 10 y 11 tardaron de 11 a 21 días. La cantidad de polen fue de aproximadamente 1.8 gramos y la cantidad de jarabe mucho más de aproximadamente 8,5 gramos, especialmente para las reinas que tardaron mucho en iniciar su nido.

Entre la iniciación y el nacimiento de la primera obrera pasaron en promedio 27,3 días lo cual da una buena indicación del desarrollo de huevo a obrera. La cantidad de polen de $1,8 \pm 1,3$ gramos refleja el consumo por parte de la reina y lo que ésta gastó en la

iniciación de nuevas celdas de cría (cuadro #3). La cantidad de jarabe usada es la fuente energética de la reina para calentar las crías. El comportamiento principal observado durante esta fase es el calentamiento de la cría.

Cuadro 3 Cantidad de alimento consumido por los abejorros entra la primera postura de la reina y el nacimiento de la primera obrera.

Reinas	Fecha iniciación	Fecha 1era obrera	Consumo de polen en gramos	Consumo de jarabe en ml
4	13 enero	05 febrero	4,7	25,8
6	18 enero	15 febrero	5,4	20,6
10	05 febrero	22 febrero	2,6	16,4
11	05 febrero	03 marzo	2,5	26
22	05 febrero	08 marzo	2,2	30,8
24	08 febrero	05 marzo	1,6	28,2
25	05 febrero	08 marzo	2,3	3,2
30	05 febrero	08 marzo	2,6	28,2
Promedio		27,3 +/- 4,8	3,0 +/- 1,2	22,4 +/- 8,4

Cuadro 4 Cantidad de alimento consumido por los abejorros entre el nacimiento de la primera obrera y el traspaso de los abejorros a una colmena grande.

Reinas	Fecha 1era obrera	Fecha traspaso a colmena grande	Consumo de polen en gramos	Consumo de jarabe en ml
4	05 febrero	24 febrero	8,5	50,1
6	15 febrero	24 febrero	2,1	34,5
10	22 febrero	24 marzo	7,2	50,6
11	03 marzo	24 marzo	9,4	67,5
22	08 marzo	24 marzo	9,1	52,3
24	05 marzo	24 marzo	8,1	49,2
30	08 marzo	07 abril	10,7	55,5
Promedio		20,6 +/- 6,9	7,9 +/- 2,6	51,4 +/- 9.0

En el cuadro 4 se presentan los datos de la fase de nacimiento de las primeras crías (7 u 8 obreras) antes de pasar la colonia pequeña al cajón grande. Al nacer más obreras se observa un consumo mayor de polen y jarabe. Llama la atención que la colonia #6 tardó solo 9 días para el nacimiento de las 8 obreras.

El tiempo total de desarrollo desde la captura de la reina hasta el traspaso a una colmena grande fue de $60,4 \pm 7,4$ días (N=7). Durante este periodo consumieron $13,0 \pm 2,2$ gramos de polen y $85,4 \pm 14,5$ ml de jarabe de azúcar.

Cuadro 5. Cantidad de alimento consumido por los abejorros entre el traspaso a la caja grande y la colonia con una población de 50 abejorros.

Reinas	Fecha traspaso a colmena grande	Fecha colmena con 50 obreras	Consumo de polen en gramos	Consumo de jarabe en ml
4	26 febrero	10 marzo	22,6	198
6	26 febrero	14 abril	41,7	667,3
11	26 marzo	28 abril	44,3	434,4
22	26 marzo	28 abril	51,9	463,6
24	26 marzo	14 abril	24,4	205,3
30	07 abril	12 mayo	42,8	346,2
Promedio		29,8 +/- 11,4	38 +/- 10,7	385,8 +/- 161,8

Para un criadero comercial es importante establecer el consumo de alimento por parte de una colonia para su desarrollo hasta 50 obreras (cuadro 5), el momento cuando se podría comercializar las colonias para ser utilizadas en la polinización de un cultivo.

El consumo para llegar a un tamaño comercial de las colonias de unas 50 obreras fue de 471 ± 158 ml de jarabe y de 51 ± 11 gramos de polen. El tiempo promedio para que la colonia de abejorros llegue a un tamaño comercial (50 obreras) es de 88 ± 17 días.

Cuadro 6. Cantidad de alimento consumido por los abejorros en el periodo entre 50 y 100 obreras.

Reinas	Fecha colmena con 50 obreras	Fecha colmena con 100 obreras	Consumo de polen en gramos	Consumo de jarabe en ml
4	12 marzo	24 marzo	40,3	350,2
6	16 abril	28 abril	44,7	297,7
11	30 abril	12 mayo	38,3	260,9
22	28 abril	12 mayo	57,8	297,3
24	16 abril	05 mayo	58,2	400,2
30	14 mayo	2 junio	99,4	339,8
Promedio		14,7 +/- 3,1	56,5 +/- 20,7	324,4 +/- 45

En el cuadro 6 se observa el rápido crecimiento de las colonias duplicando su población de 50 a 100 obreras en tan solo 2 semanas. El consumo de polen y jarabe durante esta fase es muy similar a lo que las colonias han consumido en las fases anteriores.

Cuadro 7. Cantidad de alimento consumido por los abejorros en el periodo entre 100 obreras y la última fecha de recolección de datos, 02 julio.

Reinas	Fecha de colmena con 100 obreras	Población de las colonias	Consumo de polen en gramos	Consumo de jarabe en ml
4	26 marzo	422	983,1	4004,9
6	30 abril	225	309,2	2159,7
11	14 mayo	236	232,4	1226,8
22	14 mayo	246	249,5	1181,9
24	07 mayo	343	378,4	1850,2
30	04 junio	120	154,5	888,1
Promedio		265 ± 95	384,5 +/- 276,4	1868,6 +/- 1051,4

Al finalizar las observaciones el 02 de julio, todas las colonias estaban produciendo reinas y zánganos con una población en promedio de 265 individuos (cuadro 7), siendo la colonia mas poblada #4 con 422 abejorros y la mas pequeña la colonia #30 con 120 abejorros, en este mismo cuadro se puede observar claramente el gran consumo de polen ($384,5 \pm 276,4$ gramos) y jarabe ($1868,6 \pm 1051,4$ ml) en esta etapa de acuerdo con el tamaño de la colonia. El tiempo promedio desde un tamaño comercial (50 obreras) hasta la producción de reinas es de 44 ± 16 días.

Se encontró una alta correlación entre el tamaño de la colonia y la cantidad de polen consumido ($R^2 = 0,7489$), igualmente para el consumo de jarabe y el tamaño de la colonia ($R^2 = 0,6949$).

El consumo promedio de polen y jarabe durante las diferentes etapas de desarrollo en las colonias se refleja en el figura 6. Se observa de manera clara que especialmente en las últimas 2 etapas hay mayor consumo de polen y jarabe.

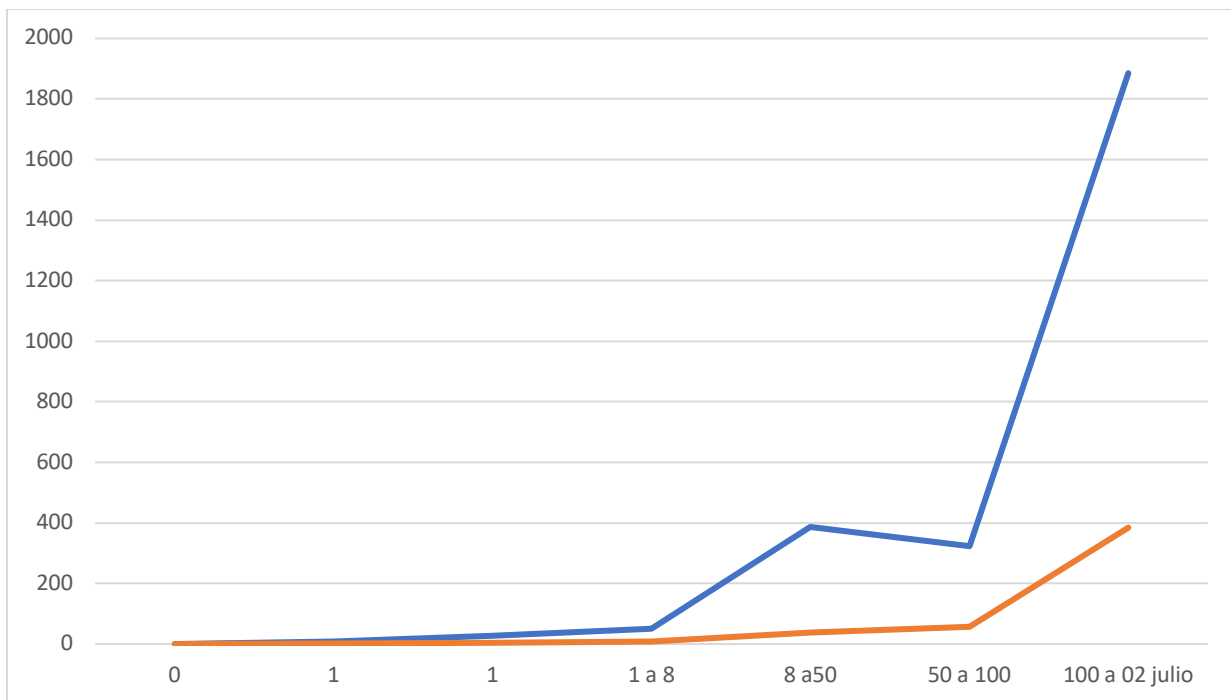


Figura 6. Consumo promedio de jarabe (en ml azul) y polen (en gramos naranja). Para las colonias números 4, 6, 11, 22, 24 y 30.

Sumando los totales de consumo para las diferentes fases, nos da un consumo promedio por colonia de 2680 ± 997 ml de jarabe y 499 ± 257 gramos de polen.

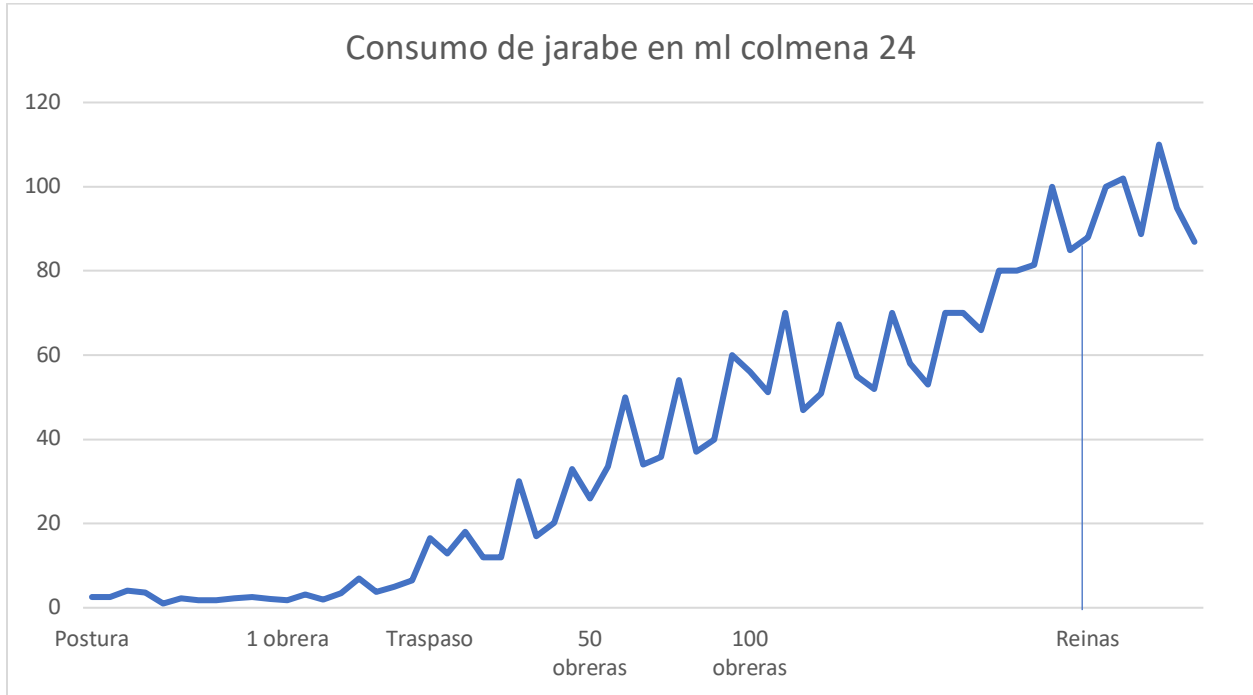


Figura 7. Consumo de jarabe en ml durante el periodo de estudio de la colonia 24.

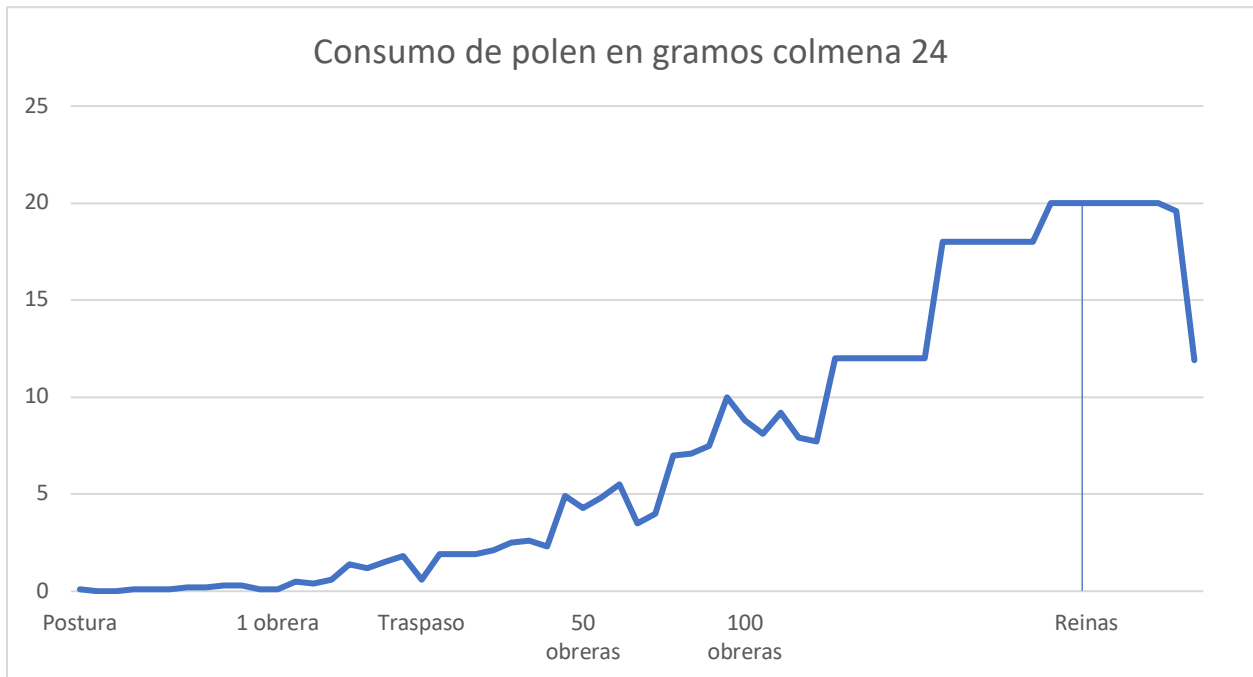


Figura 8. Consumo de polen en gramos durante el periodo de estudio de la colonia 24.

En las figuras 2 y 3 se ilustra para una colonia el consumo de jarabe y del polen. Es importante observar que la disminución en el consumo de polen coincide con la producción de zánganos y detención de la producción de obreras.

Comportamiento de la reina y las obreras en las colonias

Fue posible hacer observaciones generales en las dos colonias mas grandes de los abejorros, la 4 y la 6 entre el 24 de febrero y 9 de abril. La colonia 4 creció de 8 obreras a 98 (además de 10 obreras muertas). La colonia 6 creció de 9 obreras a 46 obreras (con 3 muertas).

Las obreras de la primera cría en las dos colonias fueron relativamente pequeñas en comparación con sus hermanas de generaciones posteriores. Durante las alimentaciones se pudo observar que aproximadamente la mitad de las obreras se dedicaban a calentar a las crías con celdas en desarrollo y la otra mitad se dedicaba a el consumo de polen y jarabe además de construcción y llenado de potes con alimento. En estas colonias grandes además de las celdas con cría se podía observar gran cantidad de potes con el jarabe, ubicados en el centro del nido (figura 9).

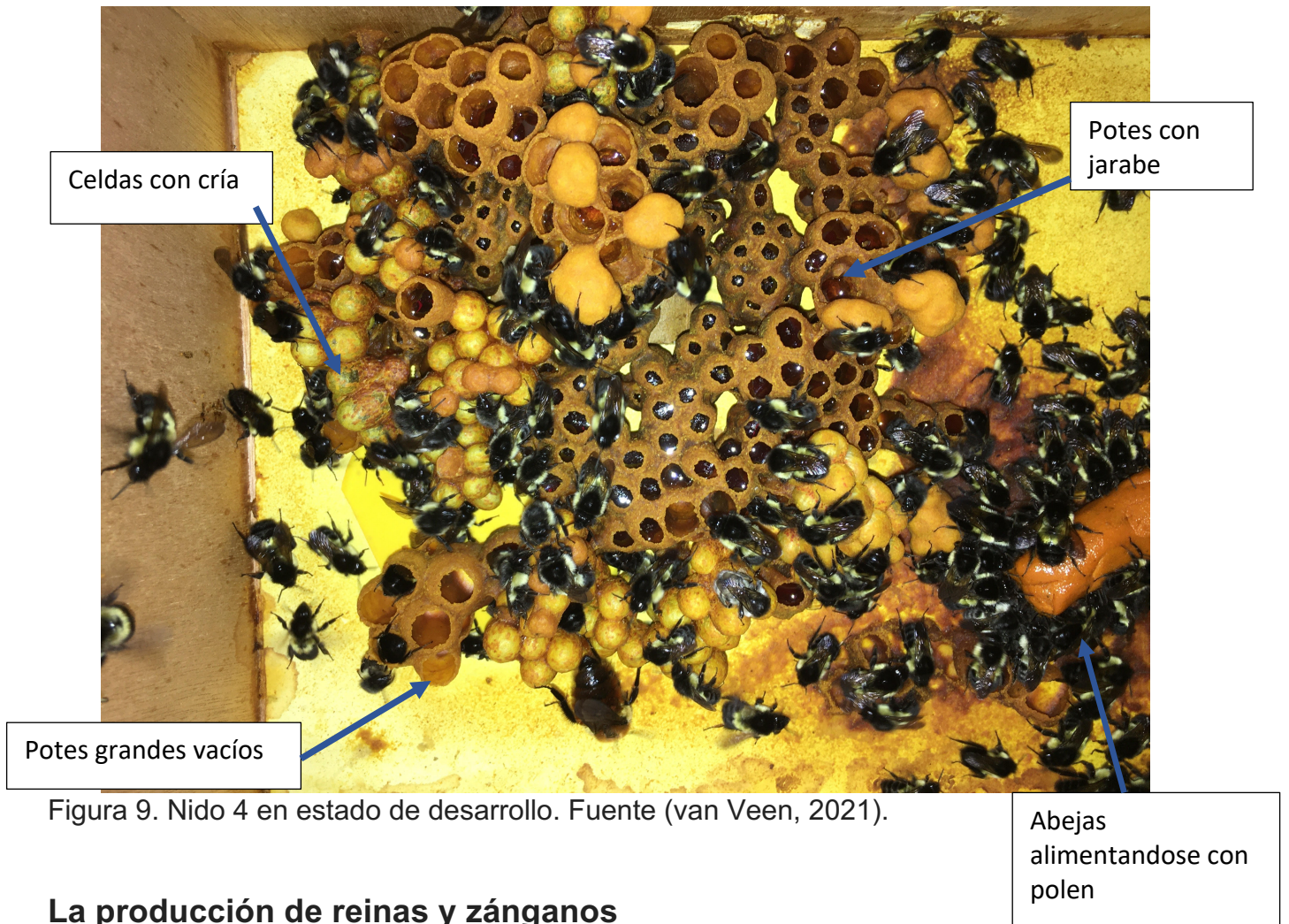


Figura 9. Nido 4 en estado de desarrollo. Fuente (van Veen, 2021).

La producción de reinas y zánganos

A finales del mes de abril se observó la construcción de las primeras celdas de reinas en las colonias, las cuales son de diferente apariencia a las de obreras. Las celdas de obreras son pequeñas y redondas, en cambio las celdas de reinas son del doble de tamaño, pero aplanadas en la parte de arriba (figura 7). Después de la producción de reinas, las colonias empezaron a producir zánganos. Se pueden distinguir las celdas por su apariencia amarillenta y forma ovalada verticalmente (figura 10). Durante esta fase las colonias dejaron de producir cría de obreras, reflejando una disminución en el consumo de polen de 19,6 gramos de polen el 30 de junio a 11.9 gramos de polen el 02 de julio (ver figura 8).

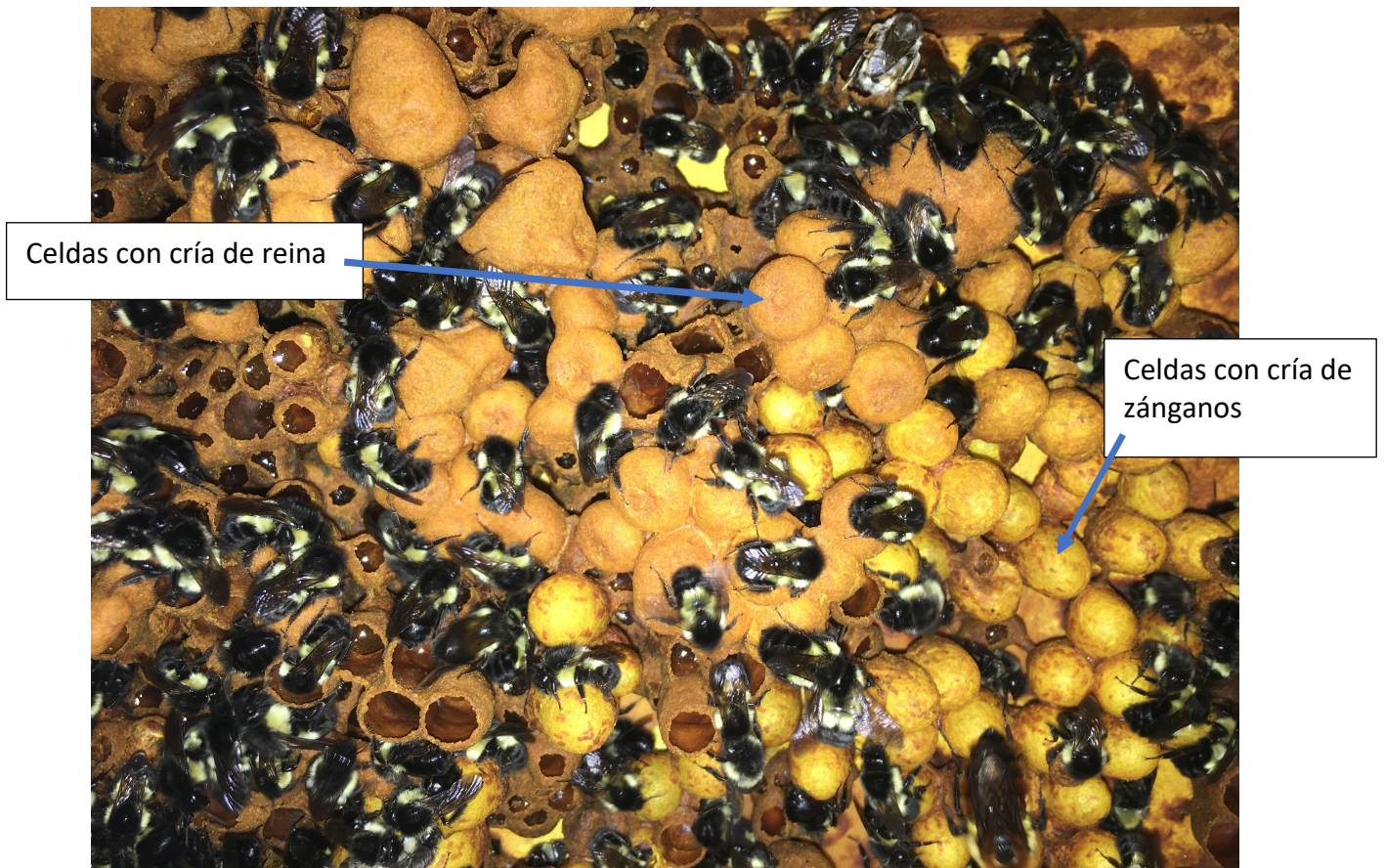


Figura 10. Muestra celdas de reinas y machos de la colonia #4. (Fuente: van Veen 2021).

Discusión

La captura de las 30 reinas fue bastante fácil y exitosa, durante el mes de enero fue fácil observar reinas en abundancia en las faldas del volcán Barva a una altura superior a los 2000 msnm. Especialmente de las primeras reinas capturadas el porcentaje de éxito para que iniciaran su nido fue baja, solo 2 de 9, factores que pueden haber influenciado son la falta de fecundación, ya que todavía en el campo se observaron comúnmente machos. Además, inicialmente se tuvieron problemas de obstrucción del alimentador de jarabe con cera depositada por la reina. La alta mortalidad pudo haber sido causada por este factor. Después de manejar los alimentadores manteniendo una limpieza frecuente de la perforación de donde se alimentaban las reinas, se redujo la mortalidad.

Es difícil encontrar datos sobre la alimentación de *B. ephippiatus*. En el estudio de Fuentes Montemayor & Madrid (2003), se menciona de manera general que para el desarrollo de colmenas al máximo tamaño de hasta más de 700 especímenes el consumo de jarabe supera hasta los 16kg y la cantidad de polen 1kg. Para *Bombus terrestris*, una especie ampliamente criada en todo el mundo, colmenas con aproximadamente 5 obreras requieren hasta 6g de polen y 50g de azúcar, y consumieron 176g de polen y 1186g de azúcar durante toda la vida de la colonia (Rotheray, Osborne, & Goulson, 2017). Este último dato es muy similar a lo encontrado en nuestro estudio, donde encontramos un consumo de 13g de polen para los primeros 60 días y un desarrollo de hasta 8 obreras.

En nuestro estudio las reinas consumieron entre 0,6 y 4,3 gramos de polen hasta iniciar la postura, la gran variabilidad encontrada en este rango se debe posiblemente al consumo de polen previo a la captura de la reina. Las dos reinas que más polen consumieron tardaron 21 días en iniciar la postura en cambio las reinas que consumieron menos que el promedio fueron las más rápidas en iniciar su nido de cría.

Por el comportamiento de las reinas y obreras en las colonias experimentales de esta especie *B. ephippiatus* que es una almacenadora de polen, utilizamos una frecuencia de

alimentación de 3 veces por semana con polen fresco y jarabe. Esta frecuencia es utilizada comúnmente en criaderos experimentales y comerciales con diferentes especies de *Bombus* (Goulson 2010, Fuentes Montemayor & Madrid 2003, Smeets & Duchateau 2001, Plowright & Jay 2015). Esta metodología permite dar un seguimiento minucioso al desarrollo de las colonias, y determinar con precisión los requerimientos alimenticios.

Las observaciones generales en las dos colonias mas grandes mostraron claramente que aproximadamente la mitad de las obreras se dedicaban a la tarea de calentar la cría y la otra mitad se ocupaban con tareas relacionadas al almacenamiento del jarabe de azúcar y la elaboración de alimento a base del polen. Un estudio (Free, 1955) indica que la división de trabajo en *Bombus* está relacionado a las necesidades de la colonia, por ejemplo, en la necesidad alimenticia de acuerdo con la cantidad de cría en la colonia, y la termorregulación ante cambios en el clima. Las obreras cambian relativamente fácil (plasticidad) entre estas tareas de acuerdo con las necesidades de la colonia. Por tanto, no se puede concluir aun que existe un grupo de obreras que se especializan en la tarea de preparación del alimento larval. Hacen falta más estudios sobre este tema.

Según este estudio el desarrollo de huevo a obrera es de aproximadamente 27,3 días. En otro estudio de *Bombus impatiens* se menciona que el desarrollo de huevo a obrera es de 24 días similar a lo encontrado en este estudio. (Cnaani, Schmidt-Hempel, & Schmidt., 2002). Un factor que podría influenciar el periodo de desarrollo de las larvas es la temperatura que no siempre fue constante. La temperatura en el espacio del estudio fluctuó entre 26 y 32 grados centígrados.

Una colonia es considerada de tamaño comercial cuando tiene una reina con aproximadamente 50 obreras (Velthuis & van Doorn, 2006). En nuestro estudio se muestra que se requiere un periodo en promedio de 88 días desde la captura de la reina para llegar a este tamaño. Durante este periodo las colonias consumieron 471ml de jarabe y 51 gramos de polen. Estudios de otros autores (Plowright & Jay, 2015, Fuentes Montemayor & Madrid, 2003) indicaron un periodo de tan solo entre 40 y 50 dias para

llegar a un tamaño de 50 obreras. Durante las primeras 12 semanas de su desarrollo colonias de *Bombus terrestris* consumieron 176 gramos de polen y 1186 gramos de azúcar (Rotheray, Osborne, & Goulson, 2017) con una población de 142 obreras, indicando un consumo en promedio de 1,24g de polen por obrera similar a 1,02g encontrado en este estudio.

El consumo de jarabe se mantiene constante durante el periodo de nacimiento de reinas y de zánganos debido a que esto sigue siendo la fuente energética para las abejas, en cambio la cantidad de polen disminuye cuanto aumenta la población de zánganos en la colonia.

Colonias de *Bombus terrestris* y *Bombus impatiens* pueden ser utilizadas entre 8 y 12 semanas en la polinización de cultivos, principalmente de tomate (Velthuis & van Doorn, 2006). Durante esta fase crecen desde 50 hasta más de 200 obreras antes de empezar a producir reinas y zánganos, en este estudio esta fase duró en promedio 44 días, para llegar a una población de 265 obreras.

Conclusiones

La cantidad de alimento requerida por la reina para la iniciación de postura es de aproximadamente 1,8g, esto es variable dependiendo de la cantidad de alimento que ha consumido antes de ser atrapada.

Se ha obtenido un buen desarrollo de colonias de *Bombus ephippiatus* alimentándolas 3 veces por semana con un jarabe de azúcar en proporción 1:1 y una masa de polen fresco proveniente de colonias de *Apis mellifera*.

La duración entre la captura de la reina y la colonia con un tamaño comercial es de 88 días aproximadamente. Y la cantidad de alimento requerida para llegar a esta fase es de 471 ± 158 ml de jarabe y 51 ± 11 gramos de polen.

El tiempo entre la fase que la colmena tiene 50 individuos y el inicio de nacimiento de reinas es en promedio de 44 ± 16 días lo cual es un dato importante para su utilización en la polinización de cultivos.

El consumo promedio total de inicio a fin del estudio de colmenas de abejorros es de 2680 ± 997 ml de jarabe y 499 ± 257 gramos de polen.

De las correlaciones significativamente positivas entre el tamaño de la colonia y el consumo de polen y jarabe se puede concluir que se acepta la hipótesis planteada.

Recomendaciones

Realizar mas observaciones sobre la división de trabajo y comportamiento dentro de la colmena.

Adaptar el alimentador de iniciación para que las reinas y las obreras no puedan tapar el orificio de donde sale el jarabe y así evitar mortalidad de colonias lo mas posible.

Realizar estudios sobre la fecundación de reinas producidas por las colmenas en cautiverio, para no depender de la disponibilidad en la naturaleza.

Bibliografía

- Abrahamovich, A. H., Diaz, N. B., & Morrone, J. J. (2004). Distributional patterns of the neo tropical and Andean species of the genus *Bombus* (Hymenoptera: Apidae). *Acta zoologica maxicana*.
- Arbetman, M., Meeus, I., Morales, C., Aizen, M., & Smagghe, G. (2012). Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biological invasions*, 489-494.
- Buchmann, S. (1983). Buzz pollination in angiosperms. *Scientific and Academic editions NY*, 73-113.
- Cerna-Chavez, E., Lara-Sanchez, E., Ochoa-Fuentes, Y., Hernandez-Bautista, O., Aguirre, L., Landeros-Flores, J., & Flores-Canales, R. (2015). Comparación de cuatro especies entomófilas sobre parámetros agronómicos del fruto de tomate de invernadero. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Departamento de Parasitología. Buenavista*, 6.
- Cnaani, J., Schmid-Hempel, R., & Schmidt, J. (2002). Colony Development, Larval Development and worker reproduction in *Bombus impatiens* Cresson. *Insectes Sociaux*, 164-170.
- Free, J. (1955). *The Division of Labour Within Bumblebee Colonies*. *Insectes Sociaux*.
- Fuentes Montemayor, E., & Madrid, A. (2003). *Biología de Bombus ephippiatus* Say (Hymenoptera, Apidae). Puebla: Santa Catarina Martir.
- Goulson, D. (2010). *Bumble bees: Their behaviour and ecology*. Oxford: Oxford University Press.
- Gurel, F., Gosterit, A., & Eren, O. (2008). Life-cycle and foraging patterns of native *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae) in the Mediterranean region. *Insectes Sociaux*, 123-128.
- Llorente-Torres, M. (2005). *Biología y métodos de cría de Bombus ephippiatus* Say. *Tesis Licenciatura en Biología, Universidad de las Américas- Puebla*.
- Macior, L. (1974). Behavioral aspects of coadaptations between flowers and insect pollinators. 769.
- Matsumura, C., Yokoyama, J., & Washitani, I. (2014). Invasion Status and Potential Ecological Impacts of an Invasive Alien Bumblebee, *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera, Apidae) Naturalized in Southern Hokkaido, Japan. *Institute of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo*, 17.
- Michener, C. (2007). *The Bees of the World*. Baltimore: John Hopkins University Press.
- Michener, C. (1974). *The Social Behaviour of the Bees. A Comparative Study*. Cambridge: Harvard University Press.
- Moerman, R., Vanderplanck, M., Fournier, D., Jacquemart, A., & Michez, D. (2017). Pollen nutrients better explain bumblebee colony development than pollen diversity. *Insect Conservation and Diversity*, 171-179.
- Moerman, R., Vanderplanck, M., Roger, N., Deceleves, S., Warthelet, B., Rasmont, P., & Michez, D. (2015). Growth Rate of Bumblebee Larvae is Related to Pollen Amino Acids. *Journal of Economic Entomology*, 109.
- Plowright, R., & Jay, S. (2015). *Rearing Bumblebee Colonies in Captivity*. *Journal of Apicultural Research*.
- Prys-Jones, O., & Corbet, S. (1987). *Bumblebees*. Richmond Publishing Co. Ltd.

- Rotheray, E., Osborne, J., & Goulson, D. (2017). Quantifying the food requirements and effects of food stress on bumble bee colony development. *Journal of Apicultural Research*, 288-299.
- Smeets, P., & Duchateau, M. (2001). *Feeding behaviour in bumble bee Bombus terrestris*. Utrecht: Utrecht University.
- Smith-Ramirez, C., Vieli, L., Barahona-Segovia, R., Montalva, J., Cianferoni, F., Ruz, L., . . . Neira, M. (2018). Las razones de porque Chile debe detener la importacion del abejorro comercial *Bombus terrestris* (Linnaeus) y comenzar a controlarlo. *Gayana (Concepc.)*, Vol 82.
- Strange, J. (2013). *Raising Bumble Bees at Home: A Guide to Getting Started*. Pollinating Inset Research Unit.
- Velthuis, H., & van Doorn, A. (2006). A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 421-451.
- Vergara, C., & Fonseca, P. (2012). POLLINATION OF GREENHOUSE TOMATOES BY THE MEXICAN BUMBLEBEE *BOMBUS EPHIPPIATUS* (HYMENOPTERA: APIDAE). *Journal of Pollination Ecology*, 27-30.
- Wahengbam, J., Raut, A., Satinder, P., & Banu, M. (2019). Role of Bumblebee in Pollination. *Annals of Biology*, 290-295.
- Williams, P. (1998). An annotated checklist of bumble bees with an analysis of patterns description (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *The Natural History Museum*, 79-152.
- Williams, P. H., Cameron, S. A., Hines, H. M., Cederberg, B., & Rastmont, P. (2008). A simplified subgeneric classification of the bumblebees (genus *Bombus*)*. *Apidologie*, 46-74.
- Zumbado, M., & Azofeifa, D. (2018). *Insectos de Importancia Agricola. Guia Basica de Entomologia*. Heredia: Programa Nacional de Agricultura Organica (PNAO).