



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE LA PLATA  
FACULTAD DE  
CIENCIAS NATURALES  
Y MUSEO

# Biología de nidificación de las especies de *Bombus* (Hymenoptera: Apidae) más comunes de la provincia de Tucumán.

Tesis para optar por el título de  
Dra. en Ciencias Naturales

Lic. Valentina Stellfeldt

Directores:  
Dr. Mariano Lucia  
Dr. Eduardo Virla

A mi Mamá, mi Hermano  
y mi hijo Máx.

# *Agradecimientos*

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, por darme la oportunidad de seguir formándome profesionalmente y como persona.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata, por permitir mi formación en tan prestigiosa institución.

A mis Directores de tesis, Dr. Lucia y Dr. Virla, por ser una guía en el desarrollo de esta investigación y la escritura de este manuscrito.

Al Dr. Gennari por la confianza.

A las y los Integrantes de la Estación Experimental INTA Famaillá que, en su conjunto, suman al funcionamiento de tan hermoso lugar de trabajo. A mis compañeras y compañeros de sección por el apoyo y el aguante en todas sus variantes. A Pablo Benedetti por los mapas, y a Euge Zeman por los datos meteorológicos.

A Lore, por la ayuda durante todas las campañas. A Ana, por las hermosas carátulas. A Romi por al aguante en las horas de escritorio.

A los “macheteadores” de Horco Molle por su ayuda en la localización de los nidos naturales en dicha zona. A la familia Carrero por recurrir a mí para manejar un nido natural. A Federico Flores, su familia y su jardinero, pero dejarme trabajar en su casa (auxiliarme y ayudarme) con un nido natural de abejorros.

A mi familia por el sostén. A mi hermana Alexia por el apoyo, la guía y ayuda a la distancia.

A mi hijo, por la comprensión del uso del tiempo en la adultez, más allá de su entendimiento.

A mis amigas y amigos por la escucha, el soporte, la ayuda y el ocio.

A todas y todos los que fueron parte del recorrido de estos años y que en este momento se hace tan difícil enlistar.

Sepan que, sin su intervención, de la manera que haya sido, hoy no estaría acá.

GRACIAS GRACIAS GRACIAS



# Índice

Resumen.....	i
Abstract.....	v
Marco teórico y sistema de estudio .....	1
Marco teórico.....	2
Generalidades de las abejas .....	2
Abejas silvestres del género <i>Bombus</i> en Argentina.....	4
Introducción de especies foráneas de <i>Bombus</i> .....	9
Planteo del problema, objetivos e hipótesis del trabajo .....	11
Planteo del problema .....	11
Objetivo general del trabajo.....	12
Objetivos específicos e hipótesis.....	12
Capítulo 2.....	14
Capacidad de reinas de <i>Bombus sp.</i> capturadas a campo y colocadas en jaulas de inicio para su desarrollo en total confinamiento.....	14
Introducción.....	15
Materiales y métodos.....	17
Trabajo de campo.....	17
Trabajo de laboratorio.....	21
Análisis de datos.....	30
Resultados.....	32

Capturas a campo.....	32
Capacidad de iniciación de colonias de las reinas en los diferentes tipos de jaula ensayados.....	32
Análisis estadístico. ....	35
Discusión.....	36
Conclusiones.....	38
Capítulo 3.....	39
Caracterización del desarrollo de colonias en confinamiento.....	39
Introducción.....	40
Materiales y Métodos.....	42
Éxito reproductivo .....	42
Seguimiento del desarrollo de las colonias. ....	43
Análisis de los datos .....	44
Resultados.....	45
Éxito reproductivo .....	45
Seguimiento de desarrollo de las colonias. ....	48
Discusión.....	77
Conclusiones.....	82
Capítulo 4.....	84
Desarrollo de colmenas en semiconfinamiento e influencia de variables externas en los períodos de aprovisionamiento .....	84
Introducción.....	85
Materiales y métodos.....	87

Sitio de estudio.....	87
Selección de colonias <i>B. pauloensis</i> .....	88
Provisión de polen y jarabe a las Jaulas nido final .....	92
Adecuación de las colonias para mantenimiento en exterior (semiconfinamiento) .....	93
Análisis de datos.....	98
Resultados.....	99
Desarrollo de colmenas expuestas al exterior (semiconfinamiento).....	99
Desarrollo de colmenas en confinamiento .....	108
Actividad de forrajeo y su relación con los parámetros temperatura y humedad relativa ambiente .....	111
Discusión.....	116
Conclusiones.....	122
Capítulo 5.....	123
Descripción de la arquitectura de nidos naturales y condiciones internas microambientales .....	123
Introducción.....	124
Materiales y Métodos.....	125
Trabajo de campo.....	126
Trabajo de laboratorio.....	128
Resultados.....	130
Descripción de nidos naturales .....	130
Descripción de nidos encontrados en domicilios particulares.....	143
Descripción de los nidos naturales a los que se les colocó data-logger.....	154

Condiciones microambientales de los nidos .....	164
Discusión.....	171
Conclusiones.....	174
Capítulo 6.....	175
Consideraciones finales.....	175
Conclusiones finales.....	176
Limitaciones.....	178
Proyecciones .....	179
Anexo.....	181
Capítulo 2 .....	181
Capítulo 3 .....	184
Capítulo 4 .....	192
Glosario.....	200
Referencias.....	201

## Resumen

El orden Hymenoptera, que incluye abejas, avispas y hormigas, es muy diverso, con más de 160.000 especies descritas. Las abejas (Anthophila) incluyen una amplia variedad de especies, desde las abejas solitarias hasta las abejas sociales, como las abejas melíferas y los abejorros del género *Bombus*. La apifauna de Argentina se caracteriza por una alta diversidad con cerca de 1.210 especies de abejas silvestres, distribuidas en cinco familias: Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae y Megachilidae, las cuales están presentes en todas las regiones del país. Los abejorros del género *Bombus* están ampliamente distribuidos en Argentina y son importantes polinizadores tanto en ecosistemas naturales como agrícolas. Su eficacia se debe a su gran tamaño, densa pilosidad, capacidad de generar calor metabólico y "polinización vibrátil". En el país, existen ocho especies nativas y dos introducidas, formando colonias sociales con nidos protegidos que pueden ser subterráneos o sobre el suelo.

La introducción de especies foráneas de *Bombus* genera preocupación debido a sus posibles impactos negativos, incluida la competencia con especies nativas y la transmisión de patógenos. Esto puede provocar la pérdida de biodiversidad y desequilibrios ecológicos. La mejor estrategia preventiva es evitar la introducción de especies exóticas y promover el uso de especies nativas.

Aunque se han logrado experiencias exitosas de cría de algunas especies sudamericanas en otros países, en Argentina aún no se cuenta con reportes de rigor científico sobre la cría en confinamiento de especies nativas de *Bombus*. Esto resalta la necesidad de investigaciones para comprender mejor su biología, hábitos de nidificación y su importancia en la producción agrícola y conservación de la biodiversidad en el país.

El objetivo general de este trabajo fue estudiar la biología de nidificación de las especies nativas más comunes de abejas del género *Bombus* en la provincia de Tucumán, Argentina. El primer objetivo particular fue, evaluar la capacidad de reinas de especies del género *Bombus*, capturadas a campo y colocadas en jaulas de inicio, para iniciar colonias en confinamiento. El

segundo objetivo consistió en caracterizar, para las especies *B. pauloensis* y *B. morio*, el desarrollo integral de colonias en confinamiento, incluyendo aspectos de su biología, éxito reproductivo, influencia del tipo de Jaulas nido construidas (Jaula nido de inicio A, plástico, vs. Jaula nido de inicio B, madera) y la respuesta a dos jarabes de alimentación diferentes. El objetivo tres fue, conocer en ensayos en condiciones de confinamiento y exterior (semiconfinamiento), el efecto de dos tipos de nidos artificiales en la dinámica y desarrollo de las colonias de cada especie utilizada, y el objetivo cuatro se centró en investigar la influencia de la temperatura y la humedad relativa ambiente en la actividad de pecoreo de *B. pauloensis*. El objetivo cinco se propuso describir la arquitectura de los nidos naturales de *B. pauloensis*, incluyendo la disposición de las celdas, los materiales utilizados en la construcción, el hábitat donde se encuentran y cualquier variabilidad observada entre diferentes nidos. El objetivo seis consistió en registrar y analizar las condiciones microambientales dentro de los nidos naturales de *B. pauloensis*.

Los resultados del trabajo de campo en Tucumán indican que *B. pauloensis* es la especie de abejorro más abundante, seguida por *B. morio*, *B. tucumanus*, *B. opifex* y *B. baeri*, en orden decreciente de abundancia.

En cuanto a la capacidad de las reinas para iniciar nuevas colonias en confinamiento, se encontró que *B. morio* tuvo menos éxito que *B. pauloensis*. Se observó que las Jaulas nido de inicio A, de plástico, favorecieron una mayor proporción de inicios en comparación con las Jaulas nido de inicio B, de madera, en ambas especies. Además, *B. pauloensis* mostró una preferencia por construir la celda huevo inicial (Ci) en el piso de la caja, mientras que *B. morio* no mostró una preferencia clara por ningún sustrato en particular.

En términos de producción de descendencia, se destaca que más del 50% de las reinas de *B. pauloensis* confinadas lograron producir descendencia. El suministro de jarabe enriquecido (1:1 jarabe de sacarosa y jarabe de azúcar invertido) afectó el tiempo de desarrollo y el éxito reproductivo comparado con el jarabe simple de sacarosa (1:1 agua y azúcar de mesa). En

relación al tipo de Jaula nido de inicio utilizadas, se observó que las Jaulas nido de inicio A, de plástico, favorecieron un mayor éxito reproductivo en comparación con las Jaulas nido de inicio B, de madera.

Con relación al desarrollo de las colonias de *B. pauloensis* en condiciones de exterior (semiconfinamiento), no se observaron diferencias significativas en la producción de sexados entre las colonias mantenidas en los dos tipos de Jaulas nido final utilizados. El traslado de colmenas al exterior aumentó la producción de obreras y reinas, beneficiando el desarrollo de las colonias en comparación con las mantenidas en confinamiento.

Se observó la presencia de involucro, una estructura cerosa que cubrió parcial o totalmente el área de cría, tanto en Jaulas nido final A, de plástico, como las Jaulas nido final B, de madera. Además, las obreras mostraron una respuesta termorreguladora, ventilando las colmenas cuando la temperatura superó los 31°C.

El análisis morfométrico de las celdas pupales reveló diferencias en el tamaño de los adultos, siendo *B. pauloensis* una especie con capullos de mayor tamaño en comparación con otras del subgénero *Thoracobombus*, y menores que *B. morio*.

La cantidad de obreras no influyó significativamente en el desarrollo de las colonias, y las colmenas clasificadas como "pequeñas" también produjeron sexados.

En las colonias en total confinamiento, la producción de machos se produjo antes que en el semiconfinamiento, y no se produjeron reinas.

La actividad de pecoreo de *B. pauloensis* mostró una correlación significativa con la temperatura y la humedad relativa. Se observó que la actividad de forrajeo se mantuvo constante en un rango de temperatura entre 19°C y 35°C. En cuanto a la humedad relativa, se encontró que la actividad de forrajeo aumentaba con un incremento en la humedad relativa, alcanzando su punto máximo entre el 75% y el 80%, y luego disminuyendo gradualmente.

Al analizar estos dos parámetros ambientales en conjunto, se observó una relación contrastante. Mientras que un aumento simultáneo de la temperatura y la humedad relativa

favorecía la actividad de forrajeo, condiciones de elevada temperatura combinada con baja humedad relativa resultaron en una disminución de la actividad de pecoreo.

El estudio reveló que *B. pauloensis*, en la provincia de Tucumán, prefiere ubicar sus colonias principalmente en el suelo, con nidos que pueden clasificarse como exclusivamente subterráneos (con túnel de entrada), predominantemente subterráneos, mixtos o predominantemente terrestres, según la clasificación de Moure y Sakagami (1962).

Los nidos se encuentran protegidos del sol y camuflados con la vegetación circundante, con entradas que son difíciles de detectar, orientadas generalmente hacia el Oeste y de unos 1,5 cm a 3 cm de circunferencia. Aunque se detectó la presencia de involucro en la periferia de los nidos, en ningún caso se encontró una cobertura completa.

La construcción de nuevas celdas de cría ocurre encima de celdas ya activas, revelando un sistema de crecimiento ascendente y hacia la periferia. Además, los nidos pueden contener una "cámara de defecación" donde se acumulan detritos vegetales y partes de cuerpos de abejorros.

La temperatura interna de los nidos oscila entre 19°C y 28°C, entre 2°C y 7°C más cálida que la temperatura ambiente. La humedad relativa dentro de los nidos varía entre el 73% y el 99%.

En resumen, las adaptaciones observadas en el comportamiento y la construcción de nidos ofrecen claves valiosas para la reproducción controlada de esta especie y mejoran nuestra comprensión de su biología y ecología en Argentina. Estos hallazgos contribuyen significativamente a mejorar las prácticas de cría en confinamiento y a la conservación de estos importantes polinizadores.

## Abstract

The order Hymenoptera, which includes bees, wasps, and ants, is highly diverse, with over 160,000 described species. Bees (Anthophila) encompass a wide variety of species, ranging from solitary bees to social bees, such as honeybees and bumblebees of the genus *Bombus*. Argentina's bee fauna is characterized by high diversity, with around 1,210 species of wild bees distributed across five families: Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae, and Megachilidae, present in all regions of the country.

Bumblebees of the genus *Bombus* are widely distributed in Argentina and are important pollinators in both natural and agricultural ecosystems. Their effectiveness stems from their large size, dense hairiness, ability to generate metabolic heat, and "buzz pollination." In the country, there are eight native species and two introduced ones, forming social colonies with protected nests that can be underground or aboveground.

The introduction of foreign *Bombus* species raises concerns due to potential negative impacts, including competition with native species and transmission of pathogens, which can lead to biodiversity loss and ecological imbalances. The best preventive strategy is to avoid introducing exotic species and promote the use of native ones.

Despite successful captive breeding experiences of some South American species in other countries, there are currently no rigorous scientific reports on the captive breeding of native *Bombus* species in Argentina. This highlights the need for further research to better understand their biology, nesting behaviors, and their significance in agricultural production and biodiversity conservation within the country.

The general objective of this study was to investigate the nesting biology of the most common native species of *Bombus* bees in the province of Tucumán, Argentina. The first specific objective was to assess the ability of queen bees of the genus *Bombus*, captured in the field and placed in starter cages, to initiate colonies in confinement. The second objective was to characterize the complete development of colonies in captivity for the species *B. pauloensis*

and *B. morio*, including aspects of their biology, reproductive success, the influence of nest box type (Starter nest box A, plastic, vs. Starter nest box B, wood) and the response to two different feeding syrups. The third objective was to know, in trials under confinement and outdoor (semi-confinement) conditions, the effect of two types of artificial nests on the dynamics and development of colonies of each species used, and the fourth objective focused on investigating the influence of temperature and ambient relative humidity on foraging activity of *B. pauloensis*. The fifth objective aimed to describe the architecture of natural nests of *B. pauloensis*, including the arrangement of cells, materials used in construction, habitat where they are found, and any observed variability among different nests. The sixth objective was to record and analyze microenvironmental conditions within natural nests of *B. pauloensis*.

Fieldwork results in Tucumán indicate that *B. pauloensis* is the most abundant bumblebee species, followed by *B. morio*, *B. tucumanus*, *B. opifex*, and *B. baeri*, in decreasing order of abundance.

Regarding the ability of queens to initiate new colonies in confinement, it was found that *B. morio* had less success than *B. pauloensis*. Starter nest boxes A, made of plastic, were observed to facilitate a higher proportion of colony initiations compared to Starter nest boxes B, made of wood, in both species. Additionally, *B. pauloensis* showed a preference for building the initial egg cell (Ci) on the floor of the box, while *B. morio* did not show a clear preference for any particular substrate.

In terms of offspring production, it is noteworthy that over 50% of confined *B. pauloensis* queens managed to produce offspring. The supply of enriched syrup (1:1 cane syrup and invert syrup) affected development time and reproductive success compared to simple sucrose syrup (1:1 water and sugar cane). Regarding the type of starter nest box used, it was observed that Starter nest boxes A, made of plastic, promoted greater reproductive success compared to Starter nest boxes B, made of wood.

With respect to the development of *B. pauloensis* colonies under outdoor (semi-captive) conditions, no significant differences were observed in the production of sexuals between colonies maintained in the two types of final nest boxes used. Moving colonies outdoors increased the production of workers and queens, benefiting colony development compared to those kept in confinement.

The presence of involucrum, a waxy structure that partially or completely covers the brood area, was observed in both plastic Final Nest Boxes A and wooden Final Nest Boxes B. Additionally, workers showed a thermoregulatory response, ventilating the hives when the temperature exceeded 31°C.

Morphometric analysis of pupal cells revealed differences in adult size, with *B. pauloensis* being a species with larger cocoons compared to others of the *Thoracobombus* subgenus, and smaller than *B. morio*.

The number of workers did not significantly influence colony development, and colonies classified as "small" produced sexual individuals.

In totally confined colonies, the production of males occurred earlier than in semi-confinement, and no queens were produced.

The foraging activity of *B. pauloensis* showed a significant correlation with temperature and relative humidity. It was observed that foraging activity remained constant in a temperature range of 19°C to 35°C. Regarding relative humidity, it was found that foraging activity increased as humidity rose, reaching its peak between 75% and 80%, and then gradually decreasing.

When analyzing these two environmental parameters together, a contrasting relationship was observed. While a simultaneous increase in temperature and relative humidity favored foraging activity, high-temperature conditions combined with low relative humidity resulted in a decrease in pollination activity.

The study revealed that *B. pauloensis* in the province of Tucumán prefers to locate its colonies

mainly in the ground, with nests that can be classified as exclusively underground (with entrance tunnel), predominantly underground, mixed, or predominantly terrestrial, according to the classification of Moure and Sakagami (1962).

The nests are protected from the sun and camouflaged with surrounding vegetation, with entrances that are difficult to detect, generally oriented towards the west and about 1.5 cm to 3 cm in circumference. Although the presence of involucre was detected at the periphery of the nests, a complete covering was not found in any case.

The construction of new brood cells occurs on top of already active cells, revealing an upward and outward growth system. Additionally, nests may contain a "defecation chamber" where plant debris and bumblebee body parts accumulate.

The internal temperature of the nests ranges between 19°C and 28°C, which is 2°C to 7°C warmer than the ambient temperature, attributed to the active incubation of brood cells through muscle contractions. The relative humidity inside the nests varies between 73% and 99%.

In summary, the adaptations observed in behavior and nest construction provide valuable insights for the controlled breeding of this species and enhance our understanding of its biology and ecology in Argentina. These findings significantly contribute to improving confined breeding practices and the conservation of these important pollinators.

## Marco teórico y sistema de estudio



## Marco teórico

El estudio de la biología de nidificación de insectos, aves y mamíferos implica el estudio de comportamientos y hábitos de nidificación. Las características de los nidos varían mucho en su forma, tamaño, materiales de construcción y ubicación, por lo que permite establecer relaciones filogenéticas a través de similitudes morfológicas y analizar las presiones de selección natural que llevan a la evolución de los distintos tipos de nidos (Collias, 1964; Benton, 1999; Roubik, 2006; Michener, 2007; Almeida, 2008; García-Mata et al., 2012). Sumado a esto, constituye un aspecto visible de la ecología del comportamiento y necesidades específicas de hábitat de diferentes especies (Roubik, 2006; Baden, 2019; McLendon, 2019). Además estos tópicos de investigación también tienen implicancias directas en la conservación, debido al impacto que los recursos de nidificación tienen en la supervivencia y reproducción de muchas especies (Orr et al., 2022), así como su potencial uso en control biológico ya sea como agente o como foco de control (Chen et al., 2002).

### ***Generalidades de las abejas***

El orden Hymenoptera, que incluye a las avispas, hormigas y abejas, entre otros, representa uno de los linajes animales más diversos en el mundo con cerca de 160.000 especies descritas que poseen una notable diversidad de historias de vida y adaptaciones morfológicas (Aguar et al., 2013).

De las siete familias de “abejas” reconocidas, cinco se encuentran representadas en Argentina: Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae y Megachilidae. Dentro de la familia Apidae, se reconocen cinco subfamilias: Anthophorinae, Apinae, Eucerinae, Nomadinae y Xylocopinae (Bossert et al., 2018); Dentro de la subfamilia Apinae se incluye la tribu de abejas “corbiculadas” Bombini, que comprende a las abejas sociales del género *Bombus* Latreille incluyendo el subgénero *Psithyrus* Lepelletier, parásitos sociales (Danforth et al., 2019)

Según su comportamiento, las abejas se pueden clasificar en tres grandes grupos: solitarias, sociales y

parásitas (Danforth et al., 2019). Más del 75% de las abejas de todo el mundo son solitarias, donde todas las hembras son capaces de producir descendencia, construir y mantener el nido y procurar el alimento necesario para el desarrollo de la cría (Danforth et al., 2019). El comportamiento social (primitivo o avanzado) se presenta en menos del 10% de las especies de abejas, exhibe una división reproductiva del trabajo, es decir algunas hembras se reproducen y otras cuidan el nido (reina y obreras respectivamente), presenta un cuidado cooperativo de la cría e implica una superposición de generaciones. Algunos taxones sociales presentan eusocialidad, es decir, la diferenciación de castas dentro de la colonia es permanente, como en los “abejorros” (género *Bombus*), las “abejas sin aguijón” (tribu *Meliponini*), las abejas melíferas” (género *Apis*) y algunas “abejas del sudor” (familia *Halictidae*) (Danforth et al., 2019). Por último, las abejas parásitas en general tienen forma de vida solitaria existiendo muy pocas sociales; y reciben este nombre ya que depositan sus huevos en los nidos de otras abejas para que sus larvas se alimenten del aprovisionamiento del nido hospedero (cleptoparasitismo) o reemplazan a la reina residente como ponedora de huevos (parasitismo social) ( Danforth et al., 2019).

Las abejas constituyen un grupo de insectos ampliamente distribuido que comprende aproximadamente 20.000 especies descritas alrededor del mundo, siendo la especie domesticada *A. mellifera* la más difundida y reconocida a nivel mundial (Michener, 2007). Son un grupo monofilético que surgió de las avispas apoideas hace al menos 125 millones de años, de hecho, estudios basados en datos moleculares respaldan la hipótesis de que las abejas tienen un origen dentro de las avispas Crabronidae (Debevec et al., 2012; Danforth et al., 2013).

Las abejas son insectos de vuelo rápido y hábitos fitófagos que explotan eficientemente gran variedad de recursos vegetales y plantas, por lo cual son importantes agentes polinizadores (Rasmussen, 2009).

La polinización consiste en la transferencia de polen (célula masculina) desde los estambres (parte masculina de la flor) hasta el estigma (parte femenina de la flor) y hace posible la fecundación. Es decir, las abejas permiten que muchas plantas se reproduzcan, y produzcan semillas y frutos (Bradbear, 2005).

A su vez, las abejas necesitan el néctar y polen como sustento diario de alimentación, que son provistos por las plantas. De esta forma, en cada interacción planta-polinizador ambos organismos resultan beneficiados. Además, algunos tipos de abejas presentan asociaciones especializadas en algunos tipos de flores debido a la morfología que presentan. Por ejemplo, si bien *A. mellifera* es considerada la mayor polinizadora a nivel mundial, no es la más efectiva para cultivos como la alfalfa, debido a la morfología particular que presenta esa flor. En cambio, la abeja cortadora de hojas (género *Megachile*) es la que mejor se adecúa a este tipo de cultivo (Pitts-Singer & Cane, 2011). De la misma forma, la flor del arándano tiene forma de campana y posee una corola larga de difícil acceso para *A. mellifera*, por lo que los polinizadores más adaptados para este cultivo son aquellos que pertenecen al género *Bombus* (Javorek et al., 2009; Cavigliasso et al., 2022) debido a la polinización por zumbido o “sonicación”, a través de la cual se libera el polen de las anteras (Buchman, 1983).

### ***Abejas silvestres del género Bombus en Argentina***

Los abejorros del género *Bombus* son especies robustas, de entre 10 a 25 mm. Están ampliamente distribuidas en nuestro país y cubren todas las regiones, desde Tierra del Fuego hasta el norte en el límite con Bolivia, incluso encontrándose algunas especies andinas, como *B. baeri*, que viven a más de 4000 metros sobre el nivel del mar (Abrahamovich & Díaz, 2002).

Las abejas silvestres del género *Bombus* están entre los más destacados polinizadores de las regiones templadas, adaptándose tanto en ecosistemas naturales como agrícolas. Deben recolectar polen y néctar como fuente de alimento por lo que visitan una gran diversidad de plantas durante la estación activa y pueden pecorear durante largos períodos diurnos, lo cual demuestra que la mayoría de las especies argentinas son poliléticas (Abrahamovich et al., 2001).

Los abejorros son polinizadores muy efectivos gracias a: 1) su gran tamaño y la densa pilosidad que recubre su cuerpo, lo cual les permite transferir más granos de polen por visita a las flores (Willmer et al., 1994); 2) por su capacidad de generar calor metabólico (Heinrich, 2004), lo cual les permite

adaptarse a una amplia variedad de temperaturas y tipos de climas y así forrajear a menores temperaturas; 3) por su capacidad de “sonicar” (“polinización vibrátil”), es decir, emplean vibraciones para liberar el polen en flores con anteras de tipo poricidas o dehiscentes (Buchmann, 1983), lo cual resulta esencial en la polinización de algunos cultivos como las Solanaceas (tomates y pimientos) y beneficioso en otros (arándanos y kiwis); y 4) por la mayor longitud de su lengua (probóscide), que le permite polinizar flores de corola larga como habas y trébol rojo, que son de difícil acceso para *A. melifera* y otros ápidos silvestres de glosa corta (Fussell & Corbet, 1991). Un estudio realizado en Argentina (Pérez-Méndez et al., 2020), demostró que la polinización biótica aumentó el cuajado de frutos maduros en un 13 % en comparación con la polinización no biótica, que el cuajado y el número de frutos por manzano se redujeron a menos de la mitad en aquellos huertos donde no había abejorros, incluso cuando las abejas melíferas estaban presentes en altas densidades, y que la ganancia del agricultor fue 2,4 veces menor en las granjas que carecían de abejorros respecto a aquellas que albergaban ambas especies de polinizadores. De esta forma, las especies de *Bombus* se convierten en excelentes, habituales y espontáneos polinizadores de especies cultivadas, pudiendo incluso complementar la actividad de otros agentes polinizadores (Garibaldi et al., 2013).

De acuerdo con Williams et al. (2008), el género *Bombus* reúne unas 250 especies a nivel mundial, conocidas vulgarmente como “abejorros”, “mangangaes”, “mamangas” o “huanqueros”. La mayoría de estas especies están distribuidas en las áreas templadas de América del Norte y Eurasia, aunque en la región Neotropical han sido citadas 25 especies agrupadas en siete subgéneros (Williams et al., 2008).

En Argentina, el género *Bombus* está representado por ocho especies nativas y dos especies introducidas, la especie paleártica *B. ruderatus* Fabricius y la europea *B. terrestris* Latreille (Tabla 1) (Roig Alsina & Aizen, 1996; Torretta et al., 2006; Abrahamovich et al., 2007).

En la provincia de Tucumán, se encuentran citadas cinco especies de *Bombus*, tres de ellas pertenecientes al subgénero *Thoracobombus* Skorikov: *B. pauloensis* Friese (ex *B. atratus* Franklin), *B.*

*morio* Swederus, *B. opifex* Smith; y dos pertenecientes al subgénero *Cullumanobombus* Skorikov: *B. baeri* Vachal, *B. tucumanus* Vachal (Tabla 2) (Abrahamovich et al., 2005, 2007; Williams et al., 2008). La abundancia relativa para las especies de *Bombus* presentes en la provincia de Tucumán es la siguiente: *B. pauloensis* > *B. morio* > *B. tucumanus* > *B. opifex* > *B. baeri*, siendo *B. pauloensis* la más abundante y mejor distribuida (Abrahamovich & Díaz 2001). Los sitios citados como lugares frecuentes y comunes de ocurrencia para las tres primeras especies son Horco Molle (región biogeográfica: Yungas), Yerba Buena y El Cadillal – Ruta Nacional N° 9, Tafí Viejo (región biogeográfica: Chaco serrano y transición Yungas-Chaco), mientras que *B. opifex* y *B. baeri* son consideradas especies de altura, aunque *opifex* presenta un registro en la zona de “El Funicular” – Horco Molle, son más frecuentes en zonas de altura del departamento Tafí del Valle (Región Monte) cuya altitud media es de 1998 m s.n.m.

**Tabla 1: Especies de *Bombus* presentes en Argentina, ubicación específica por Provincia**

(<https://biocan.unp.edu.ar/aplicacion/alphabetically.html>).

<b>Especie</b>	<b>Provincia</b>
<b><i>B. baeri</i></b>	Catamarca, Jujuy, La Rioja, Tucumán y Salta.
<b><i>B. tucumanus</i></b>	Catamarca, Jujuy, Salta y Tucumán.
<b><i>B. pauloensis</i></b> (ex <i>B. atratus</i> )	Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, La Rioja, Misiones, Salta, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán.
<b><i>B. bellicosus</i></b>	Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Chubut, Entre Ríos, La Pampa, Misiones, Río Negro, San Luis, Santa Fe y Santiago del Estero.
<b><i>B. brasiliensis</i></b>	Misiones.
<b><i>B. dahlbomii</i></b>	Chubut, Mendoza, Neuquén, Río Negro y Santa Cruz.
<b><i>B. morio</i></b>	Catamarca, Chaco, Corrientes, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán
<b><i>B. opifex</i></b>	Catamarca, Córdoba, Jujuy, La Rioja, Mendoza, , Salta, San Juan, San Luis, , y Tucumán.
<b><i>B. ruderatus</i> *</b>	Río Negro.
<b><i>B. terrestris</i> *</b>	Chubut, Mendoza, Neuquén, Río Negro y Santa Cruz

Referencias: con un \* se denotan las dos especies introducidas en nuestro país.

**Tabla2: Especies de *Bombus* presentes en la provincia de Tucumán, distribución por Departamentos.** (Adaptado de Abrahamovich & Díaz, 2002).

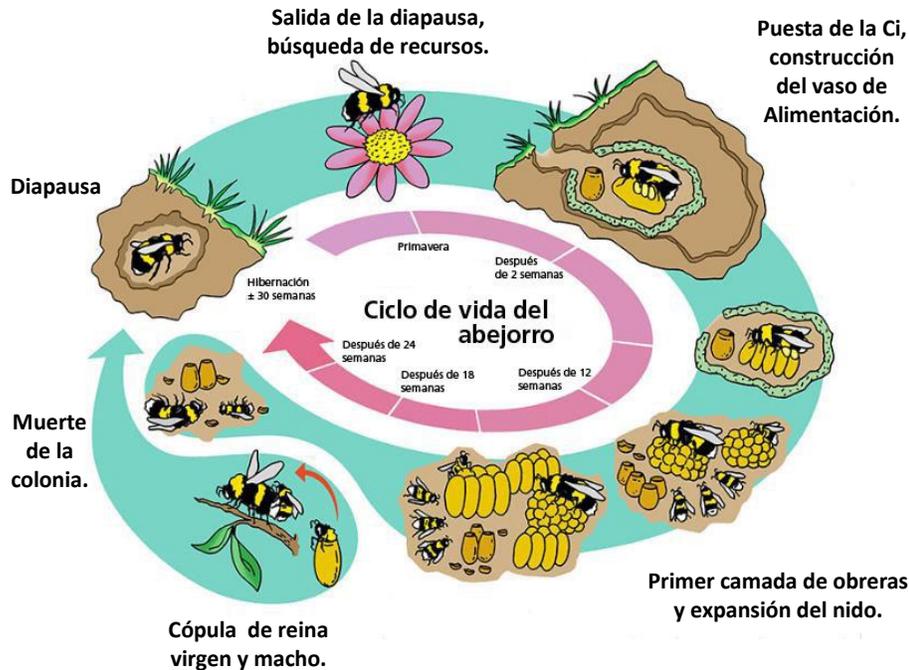
<b>Especie</b>	<b>Departamento</b>
<b><i>B. pauloensis</i></b> (ex <i>B. atratus</i> )	Burruyacú, Monteros, Río Chico, Capital, Tafí del Valle, Tafí Viejo, Trancas, Yerba Buena
<b><i>B. morio</i></b>	Burruyacú, Tafí Viejo, Yerba Buena
<b><i>B. opifex</i></b>	Río Chico, Tafí del Valle, Tafí Viejo, Yerba Buena.
<b><i>B. baeri</i></b>	Tafí del Valle
<b><i>B. tucumanus</i></b>	Yerba Buena.

Estas abejas son típicamente sociales formando verdaderas colonias a partir de una reina fundadora, con generaciones de obreras infértiles, futuras reinas y machos. Se establecen formando nidos siempre protegidos, subterráneos o sobre el suelo, y presentan ciclos de vida generalmente anuales (Abrahamovich et al., 2007). Aprovechan los nidos construidos por otros animales, cavidades naturales del suelo, lugares escondidos entre la vegetación, piedras o viviendas. El nido se comunica al exterior generalmente por una sola abertura y está compuesto de celdas ovales y agrupadas que sirven para contener huevos, larvas, pupas, polen y miel (Abrahamovich et al., 2007).

En condición natural, una reina fecundada una vez que abandona la diapausa comienza a recolectar polen y néctar para dar inicio a un nuevo ciclo (Fig. 1). Construye una pequeña cámara y, en el medio de ésta, forma una pequeña masa compacta de polen humedecido con miel moldeada con sus mandíbulas, en cuya superficie levanta una pared de cera en forma circular. En el interior del mismo deposita sus primeros huevos que luego recubre con una capa de cera (Sladen, 1912; Heinrich, 2004; Goulson, 2010) lo que constituye la primera celda de cría (celda huevo inicial: Ci) que es agrandada a medida que crecen las larvas (Michener, 2007).

La reina regula su propia temperatura con el fin de incubar los huevos, que se mantienen entre los 30°C y 32°C. Durante esta etapa inicial de la colonia, la reina abandona el nido ocasionalmente sólo para forrajear (Prys-Jones & Corbet, 1987; Goulson, 2010).

Una de las características bionómicas más importantes de este grupo de abejas es la forma de alimentación de las larvas que resultan de la eclosión de los huevos. Según la forma de alimentación larval las especies del género *Bombus* pueden ser diferenciadas en almacenadoras de polen (“pollen storers”) o constructoras de bolsillos (“pocket makers”) (Sladen, 1912; Goulson 2010). Una misma especie puede alimentarse con ambos métodos (Michener, 2007), como es el caso de *B. terrestris* (de distribución euroasiática), que almacena el polen en pequeñas vasijas de cera (Velthuis & van Doorn, 2006). Cuando las larvas necesitan ser alimentadas, las obreras toman el polen almacenado y lo regurgitan para las larvas (Katayama, 1973; Hannan et al., 1998). En contraste, *B. pauloensis* es una especie constructora de bolsillo, estructura redondeada construida de cera, paralela a la celda larval y pegada a la misma, por el cual las obreras alimentan a las larvas introduciendo el polen en los mismos y dejándolo a disposición de las larvas inmediatamente después de ser recolectado (Sakagami et al., 1976). Una vez que las larvas maduran tejen capullos creando celdas individuales quedando los capullos en grupos que representan las crías originadas en una misma celda (Goulson, 2010). Las nuevas celdas de cría se van colocando encima de los viejos capullos por lo que el crecimiento del nido se produce de manera irregular, mayormente en capas horizontales (Michener, 2007).



**Figura 1:** Ciclo Biológico del abejorro *B. terrestris*. Detalles de las diferentes etapas por las que atraviesa una reina y su progenie. Ref: Ci corresponde a la Celda huevo inicial. (Tomado de [https://ecologiahoy.net/wp-content/uploads/2014/12/ciclo\\_de\\_vida\\_abejorros.jpg](https://ecologiahoy.net/wp-content/uploads/2014/12/ciclo_de_vida_abejorros.jpg), y editado).

### **Introducción de especies foráneas de *Bombus***

La percepción de que la presencia de abejorros aumentaba el rendimiento de algunos cultivos se remonta al siglo XIX, motivo por el cual cuatro especies europeas de *Bombus* fueron introducidas en Nueva Zelanda (Macfarlane & Gurr, 1995).

El comercio de colonias de abejorros se ha visto incrementado desde la década de 1980 para satisfacer la creciente demanda de servicios de polinización en cultivos de campo abierto e invernadero (Goulson et al., 2015; Aizen et al., 2018). Sin embargo, la invasión de abejorros asociada con el crecimiento de dicho comercio figura entre los 15 problemas ambientales emergentes que probablemente afectarán la diversidad global (Sutherland et al., 2016; Aizen et al., 2018). En general, los impactos documentados de estas introducciones fueron reportados por Goulson (2003), quien planteó cinco posibles efectos negativos: (1) competencia con visitantes florales nativos por el recurso floral, (2) competencia con

organismos nativos por sitios de nidificación, (3) transmisión de patógenos a organismos nativos, (4) cambios en la producción de semillas de plantas nativas y (5) polinización de malezas no nativas. De alguna forma, todos estos efectos pueden llevar a la pérdida de biodiversidad de abejas nativas, entre otros, en especial para especies del mismo género, produciendo desequilibrios ecológicos de impredecibles consecuencias (Goulson, 2003; Goulson et al., 2008; Madjidian et al. 2008).

Específicamente *B. terrestris*, especie nativa de Europa, ha invadido algunas regiones a raíz de su introducción comercial, como Tasmania (Hingston & McQuillan, 1998, 1999; Hingston et al., 2002), Chile (Pérez, 2013; Aizen et al., 2018) y Argentina (Torretta et al., 2006), a un ritmo acelerado causando un impacto negativo sobre la flora y fauna nativas. Particularmente en Chile, *B. terrestris* ha producido efectos negativos en las abejas nativas y recientemente también ha llegado a la región de Magallanes, por ello, Pérez (2013) sostiene que el único abejorro nativo (*B. dahlbomii* Guérin-Meneville) está en riesgo, además de las 14 especies de abejas solitarias que habitan dicha región.

En el caso de Argentina, por ejemplo, son numerosos los efectos negativos de la invasión de *B. ruderatus* y *B. terrestris* desde Chile, como ser la severa disminución poblacional y extinciones locales del único abejorro patagónico nativo, *B. dahlbomii*, además de la transmisión de patógenos, daño floral y robo de néctar de plantas nativas y cultivadas (Morales et al., 2013; Aizen et al., 2018). Por su parte, la invasión de *B. ruderatus* ha dado origen a todas las poblaciones de la especie actualmente presentes en Chile y Argentina, donde fue reportado 10 años después de ser introducido en Chile (Roig Alsina & Aizen, 1996). En cuanto a *B. terrestris*, ha expandido su rango a razón de 200 km por año y junto a ella, sus parásitos han sido detectados en el noreste de la Patagonia; entre los cuales han sido citados a *Crithidia bombi* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae), *Nosema bombi* (Microsporidia: Nosematidae) y *Apicystis bombi* (Apicomplexa: Neogregarinorida) (Plischuk & Lange, 2009; Pérez, 2013). Además, dada su biología, *B. terrestris* tiene el potencial de extenderse más aún hacia el norte de Argentina en los próximos años, hacia el sur a lo largo de los Andes, siendo probable de que llegue hasta Tierra del Fuego (Schmid-

Hempel et al., 2014), e incluso llegar a Uruguay, lo cual constituye una amenaza latente para los dos abejorros nativos, *B. pauloensis* y *B. bellicosus*, del país vecino (Santos et al., 2017).

De esta forma, la mejor estrategia para impedir este tipo de problemáticas es evitar la introducción de especies exóticas y promover la utilización de especies nativas como servicio de polinización.

## Planteo del problema, objetivos e hipótesis del trabajo

### ***Planteo del problema***

La importancia de las abejas silvestres del género *Bombus* en la producción agrícola, además del reciente revalorizado rol que cumplen en la conservación de la biodiversidad, motivan investigaciones que permitan ampliar el escaso conocimiento que se dispone actualmente sobre las especies nativas presentes en la provincia de Tucumán, Argentina: su biología, distribución y preservación. La biología de la mayoría de las especies nativas del género *Bombus* presentes en Argentina es muy poco conocida, en particular los aspectos que se refieren a sus hábitos de nidificación. Existen pocos estudios sobre la biología de *Bombus* en nuestro país, y datan de hace más de 25 años el más reciente (Holmberg, 1879; Hudson, 1892; Janvier, 1955; Sosa & Brewer, 1998). El único trabajo que presenta información relacionada a las preferencias florales de las especies de abejorros del género *Bombus* en Argentina es el realizado por Abrahamovich et al. (2001). Por otro lado, mediante un convenio de vinculación tecnológica entre la empresa Biobest (Bélgica) en asociación con Brometan (Argentina) y el INTA Famaillá, se logró el desarrollo de la especie nativa *B. pauloensis* (ex *B. atratus*) para su utilización como bioinsumo por la empresa Brometán (Gerardo Gennari, com. pers.). Sin embargo, no se realizaron publicaciones de rigor científico acerca de la cría en confinamiento y de la biología de las especies nativas más comunes de *Bombus* en la provincia de Tucumán, lo cual fomentaría la producción de sus colonias para su liberación al ambiente natural.

Como se ha mencionado anteriormente, existe un potencial riesgo de que alguna de las especies exóticas presentes en Argentina afecte las poblaciones de especies nativas, o incluso puedan llegar a desplazarlas. De esta forma, es necesario realizar estudios para conocer con más profundidad aspectos de la biología, el comportamiento y, especialmente, los requerimientos de nidificación de la fauna de abejas silvestres nativas del género *Bombus* presentes en Tucumán. Esta información será de gran importancia para sentar las bases teóricas de la biología de nidificación de especies de *Bombus* nativas para así optimizar su manejo, cría y utilización, en el corto a mediano plazo, como polinizadores en cultivos de importancia económica.

### ***Objetivo general del trabajo***

En base a los antecedentes presentados, y el acotado estado del conocimiento científico actual en Argentina, se plantea como objetivo general de este proyecto de investigación ***estudiar la biología de nidificación de las especies nativas más comunes de abejas del género Bombus presentes en la provincia de Tucumán, Argentina.***

### ***Objetivos específicos e hipótesis***

1. Evaluar la capacidad de reinas de especies del género *Bombus*, capturadas a campo y colocadas en jaulas de inicio, para iniciar colonias en confinamiento.

Hipótesis: cada especie tiene necesidades particulares para iniciar exitosamente su colonia y desarrollar una población estable.

2. Caracterizar, para las especies *B. pauloensis* y *B. morio*, el desarrollo integral de sus colonias en confinamiento, incluyendo aspectos de su biología, éxito reproductivo, influencia del tipo de Jaulas nido construidas (Jaula nido de inicio A, plástico, vs. Jaula nido de inicio B, madera) y la respuesta a dos jarabes de alimentación diferentes.

Hipótesis: La supervivencia de las colonias y su biología varían entre especies y se ven significativamente afectadas por el tipo de Jaula nido utilizado y el tipo de alimentación

suministrado.

3. Conocer en condiciones de confinamiento y exterior (semiconfinamiento), el efecto de dos tipos de nidos artificiales, en la dinámica y desarrollo de las colonias de cada especie utilizada.

Hipótesis: El nido artificial proporcionado (de diferente forma, tamaño y material de construcción) es determinante no sólo en el establecimiento exitoso de la reina sino también en el desempeño de la colonia.

4. Investigar la influencia de la temperatura y la humedad relativa ambiente en la actividad de pecoreo de *B. pauloensis*.

Hipótesis: El ciclo estacional de actividades de la especie depende de factores ambientales tales como Temperatura y Humedad Relativa del ambiente.

5. Describir la arquitectura de los nidos naturales de *B. pauloensis*, incluyendo la disposición de las celdas, los materiales utilizados en la construcción, el hábitat donde se encuentra, y cualquier variabilidad observada entre diferentes nidos.

Hipótesis: La arquitectura de los nidos de *Bombus pauloensis* y su hábitat exhiben adaptaciones específicas para maximizar la eficiencia reproductiva y la supervivencia de colonias en confinamiento.

6. Registrar y analizar las condiciones microambientales dentro de los nidos naturales de *B. pauloensis*.

Hipótesis: La Temperatura y Humedad relativa dentro de los nidos de *B. pauloensis* es activamente regulada.

Capacidad de reinas de *Bombus sp.* capturadas a campo y colocadas en jaulas de inicio para su desarrollo en total confinamiento



## Introducción

El 35% de la producción global de alimentos depende de la polinización de cultivos mediada por animales (Klein et al., 2007). En su gran mayoría, este servicio es provisto por abejas melíferas manejadas o asilvestradas, por polinizadores silvestres y por diferentes especies de abejorros silvestres o manejados (Klein et al., 2007; Goulson, 2010). Dadas sus características únicas, como su gran tamaño, densa pilosidad que cubre su cuerpo, su capacidad de generar calor metabólico, de realizar polinización vibrátil y por su larga lengua, los abejorros son los polinizadores más efectivos de algunos cultivos, tanto a campo abierto como bajo cubierta (Morales, 2007). Así es que por sus características, las especies de *Bombus* tienen un gran valor económico que se ve reflejado en el aumento de la producción de numerosos cultivos comerciales (tomate, pimiento, ciruela, fresa, frambuesa, frutilla, manzana, melón, pera, girasol, alfalfa, tréboles, etc.) (Abrahamovich et al., 2007).

Como ya se mencionó anteriormente, a partir de una reina fecundada y recién salida de la diapausa, es posible dar inicio a una colmena (Salden, 1912). Basándose en esta premisa, en las últimas décadas, centros de investigación en distintas partes del mundo han buscado mejorar la técnica de cría de *Bombus* para hacerla más eficiente. Por ejemplo, Yoon et al. (2002) encontraron que para la cría de la especie asiática *B. ignitus*, los mejores resultados se obtuvieron a 27°C y 65% HR. En cuanto a la alimentación, se realiza a base de polen fresco colectado por *Apis mellifera* como fuente de proteína para el crecimiento larval (Plowright & Jay, 1966; Röseler, 1977; Ribeiro et al., 1996) y como fuente de carbohidratos una solución de sacarosa y agua al 50% (Evans et al., 2007). Estos parámetros fueron aplicados por Salvarrey et al. (2013) para la cría exitosa a nivel experimental de *B. pauloensis* y *B. bellicosus* en Uruguay.

Estudios sobre la biología de algunas especies de *Bombus* neotropicales como *B. pauloensis*, *B. morio* y *B. bellicosus*, llevados a cabo en confinamiento y semiconfinamiento, fueron realizados en países como

Brasil, Colombia y Uruguay (Laroca, 1976; Garófalo, 1978, 1979, 1980; Garofalo et al. 1986; Matos & Garófalo, 1995, 2000; Gonzalez et al., 2004; Aguilar Benavidez, 2008).

En la región Neotropical, numerosos investigadores han dedicado sus esfuerzos a la cría de especies nativas, constructoras de bolsillo, en países como Brasil, Colombia, Ecuador y Uruguay (Sakagami et al., 1967; Rojas et al., 2003; González et al., 2004; Rojas, 2006; Almanza Fandiño, 2007; Cruz et al., 2008; Pacateque et al., 2012; Rojas Prieto & Cure, 2012; Salvarrey, 2013; Riaño et al., 2014); ellos combinaron métodos que dieron resultados positivos con especies de origen euroasiático y norteamericano (almacenadoras de polen), pero no indicaron un éxito rotundo para el mantenimiento continuo y sostenible de colonias.

A pesar de los avances y la disponibilidad de información acerca de la metodología general de cría de *Bombus* en cautiverio, aún faltan detalles y avances que permitan hacerla más eficiente, como los referidos a la biología de nidificación.

Conociendo el riesgo que implica la introducción de especies exóticas (que fueron descritos en página 8), la mejor estrategia es utilizar especies nativas de *Bombus*. Sin embargo, la principal dificultad para esto es que se deben adecuar técnicas “ad hoc” para la cría de las especies nativas. En este sentido, la cría en condiciones controladas de las especies pertenecientes al grupo denominado “hacedores de bolsillo”, es más compleja y demandante que la del otro grupo denominado “almacenadores de polen” al cual pertenecen las cinco especies comercializadas en el mundo (Plath, 1923; Griffin et al., 1991; Ptacek & Drobna, 2006; Velthuis & van Doorn, 2006). Es por ello que en este capítulo se pretende conocer aspectos desconocidos relacionados a la biología de nidificación, en particular aspectos relacionados a la capacidad de inicio de colonias por parte de reinas de *Bombus sp.* capturadas a campo y mantenidas en confinamiento, basando el éxito de la experiencia en el porcentaje de inicio, y así sentar las bases de adaptación a la cría en confinamiento de especies presentes en la provincia de Tucumán. Acorde con Abrahamovich y Díaz (2001) la abundancia relativa para las especies de *Bombus*

presentes en la provincia de Tucumán se da de la siguiente manera: *pauloensis* > *morio* > *tucumanus* > *opifex* > *baeri*, siendo *pauloensis* la más abundante y mejor distribuida. Además, los sitios citados como lugares frecuentes y comunes para estas cinco especies son Horco Molle (región biogeográfica: Yunga) y El Cadillal – Ruta Nacional N° 9 Tapia (región biogeográfica: chaco serrano).

Por otro lado, el conocimiento adquirido servirá como referencia para la preservación de las especies nativas a lo largo y ancho del país, como así también de especies emparentadas presentes en la región neotropical, y para su uso como polinizadores en diferentes cultivos de interés comercial.

El **objetivo general** de este capítulo es evaluar la capacidad de reinas de especies del género *Bombus*, capturadas a campo y colocadas en jaulas de inicio, para iniciar colonias en confinamiento.

La **hipótesis** es que cada especie tiene necesidades particulares para iniciar exitosamente su colonia y desarrollar una población estable.

## Materiales y métodos

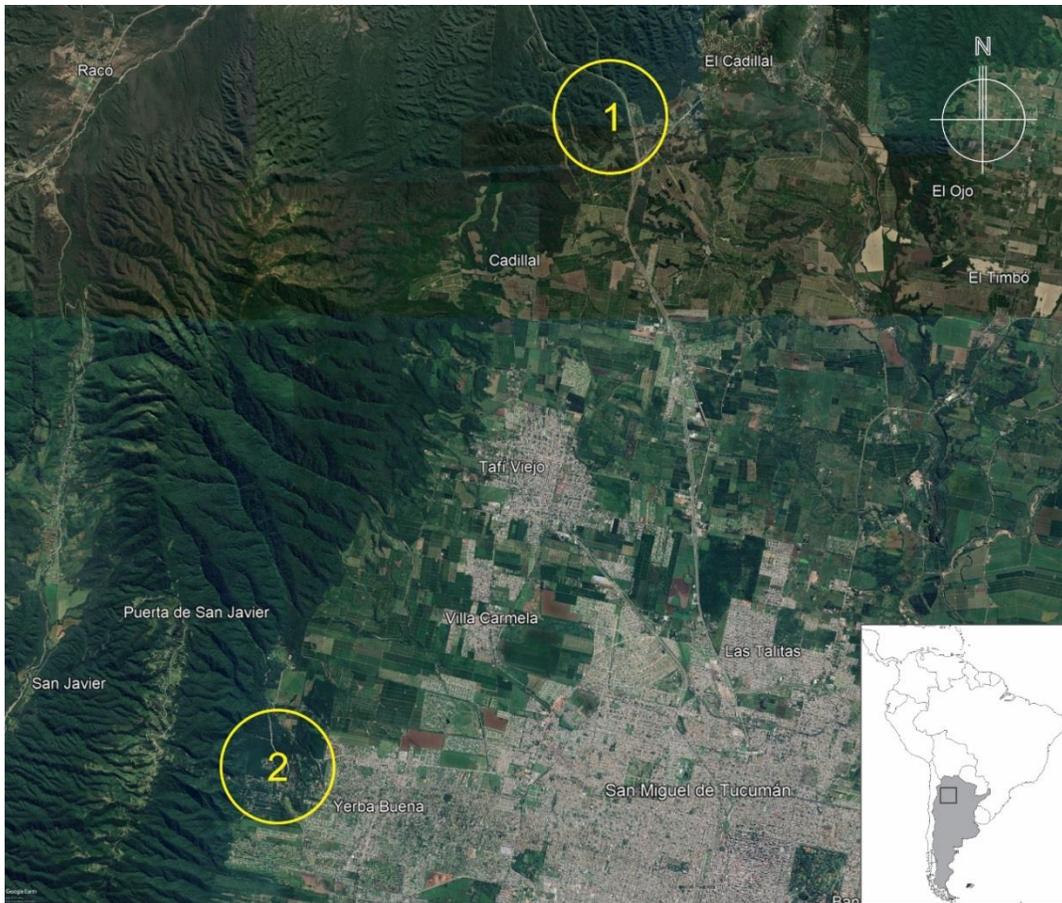
### **Trabajo de campo.**

#### **Captura y transporte**

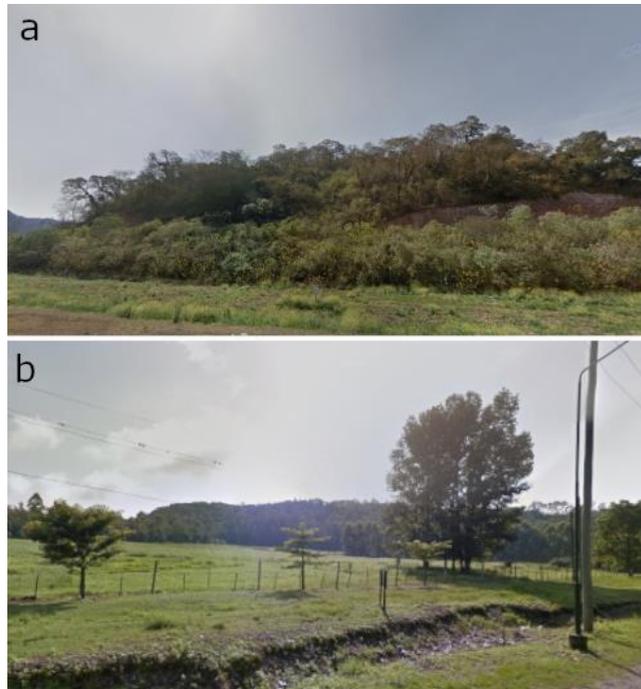
Las reinas de abejorros, por lo general, nacen hacia el final de la vida de la colonia. Durante esta etapa son fecundadas por machos y acumulan reservas de hidratos de carbono y proteína para pasar el invierno en diapausa protegidas dentro de cavidades. Con los primeros calores de la primavera, salen de la diapausa y se disponen a recolectar néctar y polen para el desarrollo de nuevas colonias (Sladen, 1912). Para dar inicio al estudio, el primer paso fue capturar en campo reinas de *Bombus* sp. que pecoreaban después de la diapausa y colocarlas en situación de confinamiento donde se estudió su adaptabilidad a tales condiciones.

La captura de especímenes se llevó a cabo durante el invierno tardío y la primavera temprana (entre principios de agosto y fines de septiembre en distintas localidades de la provincia de Tucumán) durante cuatro años consecutivos: 2016, 2017, 2018, 2019. Dichas capturas se realizaron en las dos zonas donde se encuentran frecuentemente las cinco especies de *Bombus* señaladas para la provincia, según lo reportado por Abrahamovich y Díaz (2001): Horco Molle, Yerba Buena (región biogeográfica: Yungas) y en El Cadillal, Tafí Viejo (región biogeográfica: Ecotono Yungas Chaco), durante los años 2016 – 2019 (Fig. 2).

En El Cadillal las capturas se llevaron a cabo sobre la banquina de la ruta nacional n° 9 (Fig. 3 a-b), entre los meses de agosto y septiembre, época en la que se observa gran cantidad de cardos en flor, *Cardus* spp. L. (Asteraceae), donde las reinas se encuentran pecoreando en busca de polen y néctar (ubicación aproximada 26°38'S, 65°14'O, elevación: 618 m s.n.m.). Mientras que, en Horco Molle, las capturas se realizaron en un campo donde había mucha oferta floral silvestre (Fig. 3 c - d), rodeado por un cultivo de eucalipto hacia el oeste y selva de yunga hacia el norte y este, y abierto hasta la ruta hacia el sur (26°47'S 65°19'O, elevación: 710 m s.n.m.).



**Figura 2:** Mapa indicando las zonas de muestreo. 1. Zona de colecta en ruta nacional n° 9 en El Cadillal. 2. Sitios en la zona de Horco Molle.



**Figura 3:** Vistas de las zonas de muestreo. (a) banquina de la ruta nacional 9 en la localidad de El Cadillal. (b) Horco Molle, Yerba Buena.

En ambos lugares la captura de las reinas se llevó a cabo sobre las flores, entre las 10 y las 14 horas, horario donde los *Bombus* presentan su mayor actividad de pecoreo (Morales Rozo et al., 2006). Durante la primera campaña se consideró que debía realizarse un análisis de la abundancia relativa de las especies de *Bombus* presentes en las zonas seleccionadas a fin de asegurar que el trabajo se lleve a cabo con las especies más comunes de las zonas. Se consideró que el número de ejemplares tenía que ser superior a 100 para que el muestreo de abundancia sea representativo, es decir que el esfuerzo de muestreo radicó principalmente en cumplir con la cantidad propuesta, lo que resultó en un promedio de cinco colectas por campaña. Pero luego de la primera campaña se decidió reducir el número de ejemplares extraídos de la naturaleza con el fin de no generar un impacto adverso que podría ocurrir por la sistemática extracción de reinas.

Fueron utilizados dos métodos: red entomológica y frascos de muestras de uso bioquímico acondicionados para tal efecto (en ellos se realizaron perforaciones pequeñas para permitir el flujo de

aire dentro de los mismos e impedir que la reina muera asfixiada). Para su transporte, se dispuso de frascos individuales para cada reina evitando así el ataque que pudiera llegar a ocurrir entre ellas y la consecuente pérdida de especímenes. En cada frasco se colocó una mecha de algodón embebida en jarabe de sacarosa al 50%. Las mechas (tubos de algodón enrollado y compacto que se comercializan con fines odontológicos, Dental cotton rolls, Dochem, Shangai dochem Industries Co., Ltd.) fueron cortadas para obtener discos de aproximadamente 1 cm de alto por 1 cm de ancho. Una mecha de dicho tamaño absorbe aprox. 1 cm<sup>3</sup> de jarabe. También se colocó un pellet de polen fresco (obtenido mediante trampas de polen en colmenas de *Apis mellifera*) de 1 cm de ancho por 1 cm de alto. De esta forma, se aseguró cubrir las necesidades nutricionales de la reina (debido a que no es posible conocer cuánto tiempo estuvo pecoreando previamente y si pudo satisfacer sus requerimientos) y reducir el estrés que pudiera haber sufrido al ser extraída del ambiente, con la finalidad de aumentar sus posibilidades de desarrollar una colonia con éxito. Para asegurar las adecuadas condiciones de transporte, las reinas fueron colocadas en un ambiente fresco, oscuro y de contención que absorbiera los movimientos y vibraciones. Para tal fin, los frascos con las reinas se colocaron en conservadoras de poliestireno expandido con material de relleno (bollitos de papel) para evitar el movimiento de los mismos y refrigerantes plásticos para provocar un descenso de la temperatura dentro del recipiente de transporte.

### ***Trabajo de laboratorio***

#### **Confinamiento**

La cría artificial fue llevada a cabo durante los meses de primavera, verano y principios de otoño durante cuatro años consecutivos: 2016-2017, 2017-2018, 2018-2019, 2019-2020. Los trabajos experimentales sobre cría fueron realizados en las instalaciones pertenecientes a la Estación Experimental Agropecuaria INTA Famaillá, Tucumán (27°01'S, 65°22'O). Para el acondicionamiento de las reinas al confinamiento, se construyó una cámara climatizada, que reunía todas las condiciones necesarias para hacer posible el

desarrollo de las colonias (Fig.4). La cámara contó con una superficie de siete metros de largo por cinco metros de ancho, con cierre hermético y sin ventanas para evitar contaminaciones con otros tipos de insectos o pérdidas de humedad y calor. La iluminación artificial fue proporcionada mediante luz blanca y luz roja (Fig.4), cuya frecuencia no es detectada por los abejorros, dando la falsa idea de seguir en oscuridad (hábitat de nido natural) mientras se manipulaba la colmena. Las condiciones de temperatura y humedad relativa se ajustaron en  $27\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$  y  $65\% \pm 5\%$ , utilizando un equipo de aire acondicionado frío/calor (BGH Silent Air split inverter frío/calor 3000 frigorías 220 V BSI35WCGT) y un humidificador (Vaporizador/Humidificador SILFAB), respectivamente, acorde a lo propuesto por Yoon et al. (2002). Estos parámetros (temperatura y HR) fueron registrados mediante el uso de un termohigrómetro colocado en el lugar donde fueron acondicionados los nidos.



**Figura 4:** Cámara climatizada: con luz blanca y roja

**La cría artificial se llevó a cabo en tres etapas generales:**

La primera etapa consistió en colocar las reinas recién emergidas de la diapausa capturadas de la naturaleza en “Jaulas nido de inicio” (serán descritas más adelante). Se realizó un seguimiento sobre el

comportamiento y adaptabilidad hasta la construcción de la primera celda huevo inicial (Ci), hecho que se consideró como resultado positivo de la adaptación.

La segunda etapa, que será descrita en el capítulo 3, consistió en el estudio del desarrollo de la colonia hasta la presencia de ocho a diez obreras vivas.

En la tercera etapa, se produjo el escalamiento de la colmena traspasando adultos emergidos, reina y cría en diferentes estados de desarrollo a la jaula nido final, siguiendo el estudio del desarrollo de la colonia en condiciones de confinamiento y semiconfinamiento, capítulo 4.

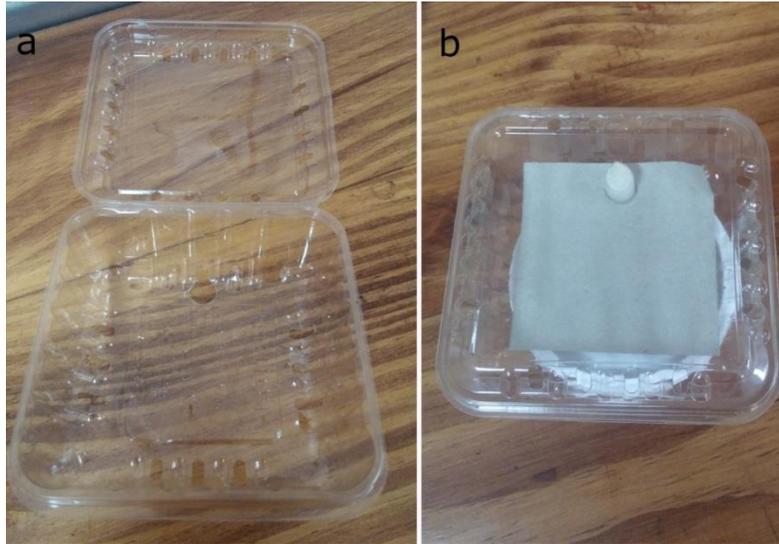
## **Nidos artificiales**

### **Jaulas nido de inicio**

Se utilizaron dos modelos de jaulas para estudiar la viabilidad de las reinas capturadas a campo:

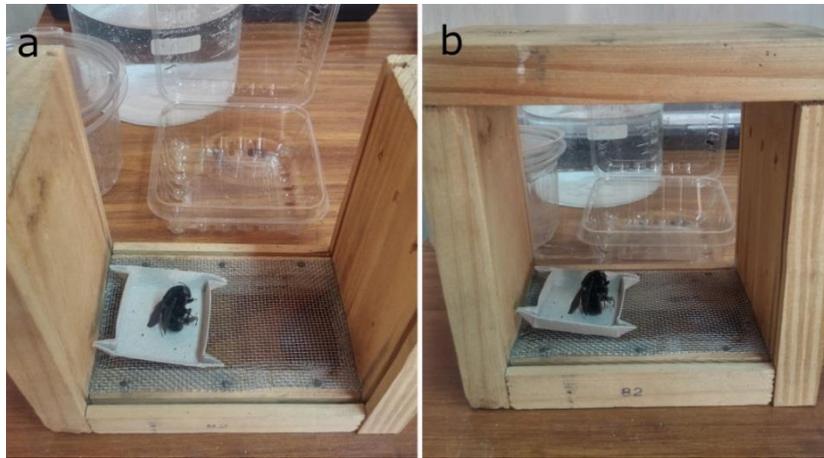
- **Modelo de plástico (Jaula nido de inicio A):** se utilizó el recipiente comúnmente llamado “clamshell”, usado para el expendio comercial de arándanos. El empaque tipo clamshell o almeja es un contenedor de plástico termoformado con dos lados conectados por una bisagra, transparente, y cuenta con una base profunda y una tapa menos profunda continua a la base y con aberturas a su alrededor, por abajo y por arriba. De estructura cuadrangular, cuyas medidas son 10 cm de ancho, 10 cm de largo y 4 cm de alto, con la tapa cerrada, similar a la jaula utilizada por Delaplane (1995) (Fig. 5 a y b). La elección de este tipo de contenedor para su implementación como nido de inicio se basó principalmente en sus dimensiones, ya que la bibliografía sugiere que las dimensiones del sitio donde se realiza la primer la postura debería tener 2,5 cm x 1,5 cm (Sladen, 1912) por lo que se consideró que mientras menor sea el espacio a colonizar por la reina más rápido será la construcción de la celda huevo inicial. Otra característica considerada fue la existencia de perforaciones tanto en la tapa como en la base que permiten un adecuado paso del aire, y las dimensiones de las mismas (que varían de 0,8cm por 0,5 cm a 1,2 cm por 0,4 cm en la tapa y 1,1 cm

por 0,5 cm a 1,4 cm por 0,4 cm en la base) que no permiten que la reina se escape, pero sí la correcta eliminación de las heces.



**Figura 5:** Modelo de plástico, Jaula nido de inicio A: (a) clamshell, abierta, con perforaciones propias de la estructura del envase y con una perforación circular en la mitad del extremo posterior de la base que permite la introducción de la mecha del alimentador. (b) clamshell cerrada con base de cartón, mecha de jarabe ya colocada y pote de jarabe exterior.

- **Modelo de madera (Jaula nido de inicio B):** se construyó siguiendo el modelo descrito por Delaplane (1995) para la elección del material y las dimensiones. El diseño consta de dos paredes de madera enfrentadas (Fig.6 a), dos paredes de vidrio para la observación del desarrollo de la cría sin perturbar a la reina, un piso de tela de alambre tejido de aluminio lo que proporciona una buena ventilación y la eliminación de las heces a través de los huecos que se forman en la malla de 0,3 cm (Fig.6 b). La jaula tiene unas dimensiones internas de 11,5 cm de alto, 12 cm de largo (paredes de vidrio) y 8 cm de ancho (paredes de madera). En la parte superior tiene una tapa de madera móvil para facilitar el manejo y la introducción del alimento sólido mediante la apertura de la misma.



**Figura 6:** Modelo de madera y vidrio, Jaulas nido de inicio B. (a) Jaula nido de inicio de madera con malla metálica en la base sin las pares de vidrio. (b) Jaula nido de inicio B completa con vidrio.

Además, en ambos modelos se colocó una pequeña base de cartón cuadrangular de seis cm a modo de piso firme, donde se dispone el polen y a la vez ofrece la contención necesaria para que la reina inicie la postura.

### **Alimentación**

La alimentación se realizó a base de polen fresco comercial colectado por *Apis mellifera* (alimento sólido, adquirido de Bullion Sergio Esteban, Santiago del Estero) como fuente de proteína para el crecimiento larval. La cantidad de proteína contenida en el polen suministrado fue analizada en el Laboratorio de Suelos, Agua y Material Vegetal, de la EEA INTA Famaillá, Tucumán, mediante la metodología N Total: Kjeldahl 29572-1, Factor Conversión NT a PT: 6.25 (resultados expuestos en Anexo). Para asegurar la adecuada conservación del polen, se lo mantuvo en freezer a temperatura mayor a 0°C para que no se congele (Fig. 7 a). El mismo fue suministrado en forma de pellets de 1 cm de alto, de acuerdo a la técnica descrita por Salvarrey et al. (2013). Los pellets se formaron con la ayuda de una jeringa de 10 ml sin punta. Ésta se relleno con el polen fresco y se presionó contra una superficie sólida y estable hasta la formación de una masa compacta; luego se extruyó una “barra” de polen firme y se la cortó en discos de 1 cm de alto (Fig. 7 b-d). Los pellets de polen fueron cambiados por pellets frescos día de por medio, revisando previamente que no tengan señas de postura, como ser: a)

cobertura de cera, b) base de celda huevo inicial, o, c) celda huevo inicial completa; en cualquiera de los tres casos se asumió que estaba destinado a la alimentación larval por lo que el pellet en cuestión no fue removido y se agregó uno nuevo. Para la realización del cambio de polen se utilizó una luz auxiliar proveniente de una lámpara tipo de pie con un foco de 60 W apuntando hacia la pared contraria de donde se encontraban las jaulas de inicio para que no resultaran directamente iluminadas.



**Figura 7:** Proceso de preparación del polen para alimentación. (a) polen fresco; (b) polen conservado en frío e introducido en la jeringa; (c) obtención de pellet de polen a través de la jeringa; (d) pellet de polen ya formado.

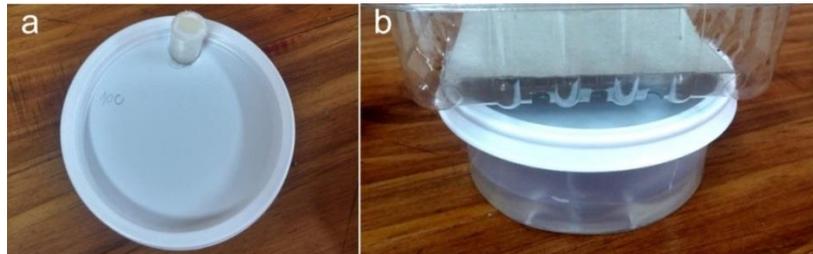
La fuente de carbohidratos utilizada consistió en una solución de sacarosa al 50% (50% agua destilada y 50% azúcar de caña), de acuerdo a Evans et al. (2007), Rojas Prieto & Cure (2012) y Salvarrey et al. (2013). Esta solución de sacarosa se usó durante los ensayos realizados en los años 2016 a 2018 y fue denominada “jarabe común”.

Posteriormente, en los ensayos de 2019 se probó realizar una adaptación de la formulación de un jarabe enriquecido nutricional y organolépticamente de acuerdo a la información compartida en una reunión organizada por el Departamento de Agricultura de los EEUU (USDA-ARS) por James P. Strange en Logan Utah, EEUU (sin publicar). El mismo fue denominado “jarabe enriquecido” y consistió en azúcar, utilizando el mismo para la formación de un jarabe de sacarosa (disacárido) y uno de azúcar invertido (formado por los monosacáridos glucosa y fructosa), aceites esenciales y un suplemento proteico formulado para la nutrición de colmenas de abejas melíferas en su salida del invierno. El jarabe de

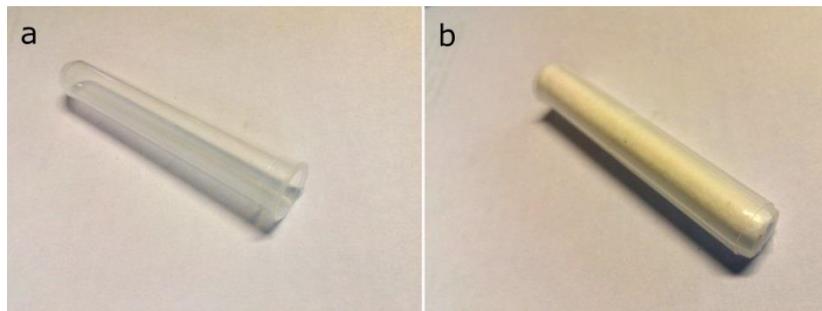
azúcar invertido se obtuvo de la siguiente manera: mezclar 1125 ml agua segura, 900 g Sacarosa y calentar hasta ebullición. Luego agregar 1,07 g de Ácido Cítrico, calentar nuevamente durante 20 min para desdoblarse los azúcares, y agregar 1,5 g de Ácido Sórbico; llevar a volumen final de 1600 ml. La formulación del Jarabe de Sacarosa es la siguiente: calentar hasta ebullición 750 ml agua segura, y agregar 600 g sacarosa; después llevar a volumen final de 1300 ml. El suplemento proteico utilizado fue Nutribee® (10 g), cuya composición es: 14% proteína bruta (mínimo), 0,2% tenor mínimo de extracto etéreo, 0,5% tenor máximo de fibra cruda, 6% tenor máximo de minerales totales, 6% tenor máximo de humedad, 0,25%-0,35% tenor de calcio (mín. y máx), 0,8%-0,12% tenor de fósforo (mín. y máx.), azúcar impalpable, harinas vegetales no transgénicas, proteína no transgénica, vitaminas A, B1, B2, B6, B12, D, E, K3, Ácido Fólico, Biotina, Niacina, Colina. Aminoácidos: Ácido Glutámico, Lisina, Metionina, Isoleucina, Treonina. Como último paso se mezclaron los dos volúmenes obtenidos en cada preparación, se agregaron 10g de Nutribee más 6 gotas de aceite de limón y 6 gotas de aceite de árbol de té (Tea Tree), con lo que se obtuvo el jarabe final para alimentación. El pH final se midió con un ph-metro electrónico (Altronix) y varió entre 5 y 6 (entre los distintos lotes producidos). La concentración de azúcares fue de 50°Bx.  $\pm$  2°Bx., medido con refractómetro electrónico (American Optical Corporation, ABBE REFRACTOMETER, modelo: 10460 SERIAL; USA).

El alimento fue dispensado por la parte inferior de las jaulas para evitar problemas de goteo y suciedad. El dispensador contuvo el jarabe (alimento líquido), y consistió en un recipiente circular de plástico de 3,5 cm de alto por 8,5 cm de alto con tapa, y una capacidad total de 250 ml (Fig. 8 a y b). La tapa se perforó con un sacabocado de 1 cm de diámetro por el cual se introdujo un tubo eppendorf de 10 ml de capacidad sin fondo y relleno de dos mechas consecutivas de algodón enrollado (Fig. 9 a y b). Este conjunto de mechas permitió que el jarabe ascienda por efecto de capilaridad quedando la punta superior siempre húmeda y el alimento a disposición *ad libitum*. El jarabe se cambió cada cinco días por jarabe nuevo y fue revisado día por medio en busca de parámetros de fermentación, tales como

burbujeo o formaciones de cuerpos extraños; también se controló la correcta capilaridad de las mechas y ascensión del jarabe. La cantidad total suministrada del mismo fue de  $25 \pm 5 \text{ cm}^3$ . Para el cambio de jarabe, se utilizó una luz auxiliar del tipo lámpara de pie con un foco de 60 W.



**Figura 8:** Pote de jarabe. (a) vista superior del pote con mecha en contacto con el jarabe. (b) vista frontal del pote con jarabe.



**Figura 9:** Mecha de alimentación: (a) tubo de hemólisis plástico con el extremo inferior cortado. (b) tubo relleno con mechas de algodón de uso odontológico.

## Monitoreo

Cada reina fue observada dos veces por semana durante 15 minutos para poder tomar datos sobre su adaptación y biología y así registrar su comportamiento (reconocimiento de sitio, comportamiento defensivo, postura de la celda huevo inicial, incubación, inicio de construcciones, y aceptación del alimento). Todos los datos fueron volcados a una planilla electrónica Excel, y fueron acompañados de grabaciones y fotos.

## Limpieza y Mantenimiento

Las tareas de limpieza y mantenimiento fueron realizadas sobre la superficie de las estanterías donde se encontraban las jaulas nido para no alterar el equilibrio desarrollado dentro del mismo. Se utilizó papel

sulfito en la superficie de los estantes debajo de los nidos como material absorbente de detritos o jarabe derramado y contención para restos de polen, lo que permitió agilizar la limpieza retirando los mismos y colocando nuevos cada dos días.

En el único caso en que se llevó a cabo la limpieza del interior del nido fue cuando se observó acumulación de detritos que no fueran correctamente eliminados fuera del nido por acción de la gravedad a través de los huecos presentes en cada tipo de jaula, ya que las reinas no podían realizar vuelos de eliminación de los mismos. Para ello, se introdujo una pinza recubierta de algodón a modo de adsorbente.

Se realizó un minucioso monitoreo de la posible presencia de agentes externos tales como “polillas” [*Achroia grisella* Fabricus (Lepidoptera: Pyralidae), pollila de la cera] y/o “mosca de la fruta” [*Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae)] ya que el ambiente y el alimento proporcionado era ideal para el desarrollo de ambos organismos. En el caso de las “polillas”, su dieta típica consiste en miel, cera y polen de las colmenas, residuos de abejas y en algunos casos las crías de abejas. Las “moscas de la fruta” podrían contaminar el jarabe de sacarosa produciendo su fermentación, lo que acorta el tiempo de durabilidad. En ambos casos se compromete el normal desarrollo de la cría de las especies en estudio. Se colocaron trampas cromáticas amarillas para insectos que fueron pegadas en las esquinas y por los bordes de cada uno de los estantes ocupados por las jaulas. Se eligió esta ubicación para evitar que posibles reinas u obreras escapistas sean atrapadas por la trampa pegajosa. Para el control de la “mosca de la fruta” se realizó una mezcla de polen, agua, azúcar, vinagre y gotas de detergente y en el borde superior del recipiente contenedor se pegaron tiras de la trampa pegajosa, de modo que al posicionarse el insecto para alimentarse quedara pegado y de no ser así, quedara atrapado en el líquido cuya tensión superficial fue puesta en conflicto por el uso del detergente. Estas trampas fueron dispersadas entre las jaulas en un número de dos por estante. En cuanto a las “polillas” el control ejercido fue cultural, el polen se cambió cuidadosamente para evitar que quedaran restos por debajo

del cartón o por fuera de la jaula, y se monitoreó constantemente que no hubiera adultos volando o larvas desarrollándose en el interior del pellet. Debido a que la luz blanca era encendida durante lapsos momentáneos, las trampas amarillas dispuestas en el perímetro de las estanterías no ejercieron su función de atracción al máximo, pero tampoco se consideraron totalmente inefectivas.

### **Análisis de datos**

Después de su estudio en laboratorio y luego de muertas, las reinas capturadas para la cría en confinamiento durante todos los años de experimentación, se enviaron al laboratorio de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, para su debida identificación. Cabe resaltar que posteriormente a la campaña 2016-17, ante el bajo número de *B. tucumanus* vistas y capturadas (diferenciable fácilmente de las formas típicas melánicas de *B. pauloensis* y *B. morio* por presentar una combinación de pelos amarillos, negros y blancos en el metasoma de su típica forma flavínica), y la nulidad de desarrollo de colmenas, se tomó la decisión de no coleccionar especímenes de esta especie durante los años subsiguientes.

### **Abundancia de reinas**

La abundancia relativa de las especies más comunes de *Bombus* en los dos ambientes monitoreados fue calculada, para cada año, empleando la siguiente fórmula:  $n^{\circ}$  de reinas de cada especie (*B. pauloensis*, *B. morio*, *B. tucumanus*)\*100 /  $n^{\circ}$  total de reinas capturadas. De la misma manera se calculó el porcentaje total de las campañas en conjunto.

### **Inicio de postura**

La probabilidad de que inicien ( $P_i$ ) una colonia se obtuvo mediante la aplicación de la fórmula  $P_i = n^{\circ}$  de hembras que pusieron celda huevo inicial /  $n^{\circ}$  total de reinas confinadas, y la chance (Odds: razón entre la probabilidad de que ocurra un evento y la probabilidad de que no ocurra, Cerda et al., 2013) de que una reina inicie una nueva colonia mediante la fórmula  $CH = P_i / 1 - P_i$ . Ambos parámetros fueron calculados de manera global, es decir sin discriminar por especie ni por tipo de Jaula nido inicial

utilizado, y luego discriminados por especie.

Para observar si existen diferencias en el inicio de postura de cada reina teniendo en cuenta el tipo de Jaula nido inicial utilizado, se calculó el total marginal de cada tipo de jaula nido (A = plástico o B = madera) dado por  $[\text{n}^\circ \text{ de inicios} / \text{n}^\circ \text{ de ensayos (A o B)}] * 100$ . Además, se obtuvieron los porcentajes de inicio en cada tipo de jaula mediante el cálculo de los totales marginales del número de inicios entre aquellos días en que se observó una frecuencia mínima de nueve reinas diferentes iniciando y el número total de reinas que iniciaron teniendo en cuenta todas las campañas ( $\text{n}^\circ \text{ de inicios en días más frecuente} / \text{n}^\circ \text{ de inicios totales}$ )\*100. Finalmente, se registraron los valores máximos y mínimos de días empleados para construir la primera celda de cría (celda huevo inicial) por cada individuo.

Por último, se observó la preferencia de cada reina en relación al sustrato utilizado para la construcción de la celda huevo inicial (pellet de polen o cartón de la base de la jaula nido), teniendo en cuenta cada inicio de postura y calculando la proporción para cada sustrato.

### **Análisis estadístico de los datos**

El análisis de los resultados mediante estadística inferencial se llevó a cabo con el software estadístico R (2021). Se realizó un modelo lineal generalizado mixto (Zuur et al. 2009) para una variable con distribución Bernoulli (regresión logística), cuya variable dependiente puede tener solo uno de dos resultados posibles: éxito/fracaso (inició/no inició). Las variables independientes consideradas en dicho modelado fueron “tipo de jaula” (dos niveles: A y B), “especie de abejorro” (dos niveles: *B. morio* y *B. pauloensis*) y la interacción entre ambas variables. La inclusión de la variable de efectos aleatorios en la cual se realizaron los ensayos (“año”) permitió modelar la variabilidad observada en campañas sucesivas. Se utilizó la función glmer de la librería lme4 (Bates et al., 2015) para llevar a cabo los análisis. La validación de los supuestos del modelo final fue llevada a cabo mediante el análisis de los residuales del mismo utilizando la librería DHARMA (Hartig, 2022). Finalmente, el estudio del “sitio de inicio de postura” en las especies *B. pauloensis* y *B. morio* fue llevado a cabo mediante una prueba de  $\chi^2$  de

bondad de ajuste por separado para cada especie en particular.

## Resultados

### **Capturas a campo**

Los resultados obtenidos indicaron que la especie más abundante capturada en campo correspondió a *B. pauloensis* seguida de la especie *B. morio* y en mucha menor medida *B. tucumanus* (Tabla 3).

*Bombus pauloensis* y *B. morio* representaron el 98,7% de la totalidad de los especímenes reina capturados (tabla 3), siendo *B. pauloensis* la más abundante durante todas las campañas con el 84,6% de los ejemplares.

**Tabla 3: Abundancia de las especies del género *Bombus* capturados en Tucumán durante cuatro campañas de muestreo.** Valores expresados entre paréntesis indican el correspondiente porcentaje. nr: no recolectado (ver razones en página 28),

<b>Campaña</b>	<b>Total de Reinas</b>	<b><i>B. pauloensis</i></b>	<b><i>B. morio</i></b>	<b><i>B. tucumanus</i></b>
<b>2016-17</b>	108	84 (77,77)	20 (18,52)	4 (3,71)
<b>2017-18</b>	64	56 (87,5)	8 (12,5)	nr
<b>2018-19</b>	81	75 (92,59)	6 (7,41)	nr
<b>2019-20</b>	60	50 (83,33)	10 (16,67)	nr
<b>Total</b>	<b>313</b>	<b>265 (84,67)</b>	<b>44 (14,05)</b>	<b>4 (1,28)</b>

### **Capacidad de iniciación de colonias de las reinas en los diferentes tipos de jaula ensayados**

De manera global resultó que la probabilidad de que las reinas silvestres inicien (Pi.) una colonia en cautiverio fue de 0,60. Es decir, un 60% del total de las reinas capturadas de la naturaleza tuvieron la capacidad de establecer al menos una celda huevo inicial. La chance de que inicien (CH.) fue de 1,48, es decir, sin discriminar por especie, un 48% más sobre la chance de que no inicien (tabla 4).

**Tabla 4: Capacidad de inicio exitoso de colonias de las especies con las que se trabajó.**

<b>Especie</b>	<b>Ensayos realizados</b>	<b># Nidificación efectiva</b>	<b>Porcentaje de nidificación</b>	<b>Período de ensayo</b>
<b><i>B. morio</i></b>	44	18	41%	2016-2019
<b><i>B. pauloensis</i></b>	265	168	63.4%	2016-2019
<b><i>B. tucumanus</i></b>	4	0	-	2016-2017
<b>Total de ensayos</b>	313	187	60%	2016-2019

Para la especie *B. morio* (N = 44), la probabilidad de que inicie una colonia (Pi.) resultó igual a 0,41 (Tabla 4). La chance de que inicien (CH.) fue 0,69; es decir que las chances de que inicien es 0,31 veces menor de que no inicien y, en consecuencia, la especie tiene un 31% de posibilidad real de iniciar una cría.

Al analizar si existe preferencia sobre el tipo de Jaula nido inicial utilizado se observó una tendencia hacia la Jaula nido de inicio A, de plástico, superando la cantidad de inicios en un 20% a la Jaula nido de inicio B, de madera, (Tabla 5).

**Tabla 5: Porcentaje de inicios exitosos de colonias de *B. morio* registrados para ambos tipos de Jaula nido de inicio utilizadas.**

	<b>Tipo de jaula</b>	
	<b>Jaula nido de inicio A (%)</b>	<b>Jaula nido de inicio B (%)</b>
<b>Inició</b>	12 (50)	6 (30)
<b>No inició</b>	12 (50)	14 (70)
<b>Total</b>	24	20

Referencias: los porcentajes obtenidos fueron calculados a partir del Total marginal de cada material (ej. para jaula de inicio B: (n inicios en Jaula nido de inicio B / n ensayos en jaula nido de inicio B)\*100 = (6/20)\*100).

El tiempo que le llevó a las reinas de *B. morio* construir la primera celda huevo desde que fueron puestas

en confinamiento varió entre 2 y 37 días para las Jaulas nido de inicio A, de plástico, con una media ( $\pm$  desvío estándar) de 12,7 ( $\pm$  11,4) y 0,3 ( $\pm$  0,65) reinas iniciando por día. En cuanto a las Jaulas nido de inicio B, de madera, las reinas tardaron de 6 a 39 días con una media de 15,2 ( $\pm$  13) y 0,13 ( $\pm$  0,34) reinas iniciando por día.

Teniendo en cuenta la elección del sustrato en base al total de inicios (n=18), 11 reinas iniciaron la construcción de la celda huevo inicial sobre el pellet de polen ofrecido, lo que corresponde al 61%, mientras que las siete restantes, es decir el 39%, lo hizo sobre el cartón. La mayor frecuencia de postura de la celda huevo inicial (Ci) se dio al día 12 en las Jaulas nido de inicio A, con dos reinas oviponiendo el mismo día, mientras que en las Jaulas nido de inicio B no se superó nunca una postura por día.

En cuanto a la especie *B. pauloensis* (N = 265) la probabilidad de inicio resultó en 0,63 (Tabla 4). Con respecto a la chance de inicio resultó ser 1,73; es decir que, la chance de que la especie inicie es 0,73 veces mayor de que no inicien, hay un 73% más de posibilidades de que construyan al menos una celda huevo inicial de que no lo hagan.

Con respecto al desempeño según el tipo de Jaula nido de inicio en las cuales fueron confinadas (Tabla 6), se verificó una tendencia a utilizar más exitosamente la Jaula nido de inicio A, de plástico, ya que supera en un 20,1% a la Jaula nido de inicio B, de madera, con un total de 73,5% de inicios sobre un 53,4%.

**Tabla 6: Porcentaje de inicios exitosos de colonias de *B. pauloensis* registrados para ambos tipos de Jaula de inicio utilizadas.**

Tipo de jaula		
	Jaula nido de inicio A (%)	Jaula nido de inicio B (%)
<b>Inició</b>	97 (73,48)	71 (53,38)
<b>No inició</b>	35 (26,52)	62 (46,62)
<b>Total</b>	132	133

Referencias: los porcentajes obtenidos fueron calculados a partir del Total marginal de cada material (ej. para Jaula nido de inicio A: (n inicios en Jaula nido de inicio A / n ensayos en Jaula nido de inicio A)\*100 = (97/132)\*100).

Las reinas de *B. pauloensis* demoraron entre 1 y 83 días en realizar la primera postura en Jaulas nido de inicio A y en entre 1 y 59 días en Jaulas nido de inicio B, siendo estos los valores más extremos. De manera global, el 86,5% de las reinas inició entre los 4 y 30 días desde la puesta en confinamiento en las Jaulas nido de inicio A con una media ( $\pm$  desvío estándar) de 12 ( $\pm$  7,71) de días para el inicio y 3,6 ( $\pm$  3,13) reinas iniciando por día. El 79,2% de las reinas puestas en las Jaulas nido de inicio B iniciaron entre los 7 y 30 días, con una media ( $\pm$  desvío estándar) de 18 ( $\pm$  8,2) de días para el inicio y 2.9 ( $\pm$  2.2) reinas por día. En las Jaulas nido de inicio A, la mayor frecuencia de postura de la celda de inicio se dio al día cuatro (10 reinas), y en las Jaulas nido de inicio B se dio al día siete (nueve reinas).

Al realizar una estimación sobre si existe una preferencia con respecto al sustrato elegido para iniciar, se analizaron los 168 ensayos que iniciaron exitosamente, de los cuales 112 lo realizaron sobre cartón lo que representa un 67,7% de las veces, mientras que los restantes 56 fueron iniciados sobre pellet de polen, lo cual representa el 32,3%.

### **Análisis estadístico.**

Las variables predictoras (especie y tipo de jaula) modelaron la probabilidad de que ocurra el inicio de la postura (tipo de jaula:  $\chi^2 = 12,975$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,001$ ; Especie:  $\chi^2 = 8,023$ ,  $gl=1$ ,  $p<0,01$ ), mientras que la interacción entre ellas no presentó dicha tendencia ( $\chi^2 = 0,001$ ,  $gl=1$ ,  $p=0,97$ ). La especie *B. pauloensis* tiene una mayor probabilidad de iniciar una cría que *B. morio*. Por otro lado *B. pauloensis* presentó preferencia por la Jaula nido de inicio A sobre la Jaula nido de inicio B mientras que en la especie *B. morio* no se observa dicha tendencia (los contrastes son mostrados *a posteriori* en anexo). Sobre el estudio del sustrato elegido para el inicio de la construcción, cartón vs polen, se observa que para la especie *B. pauloensis* existe una tendencia para iniciar en el sustrato cartón (sustrato:  $\chi^2 = 18,667$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,0001$ ); en cambio, para el caso de *B. morio* no existió tal preferencia ( $\chi^2 = 0.89$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,3458$ ).

## Discusión

Como resultado del muestreo realizado en este trabajo, en las localidades de El Cadillal y Horco molle (Yerba Buena) se capturaron tres especies (*B. pauloensis*, *B. morio* y *B. tucumanus*) y su respectiva abundancia relativa coincide con lo reportado por Abrahamovich y Diaz (2001) quienes indicaron que, de las especies citadas para Tucumán, la más abundante resultó ser *B. pauloensis* seguida de *B. morio* y luego *B. tucumanus*. En este capítulo se estudió la capacidad de las reinas de *B. morio* y *B. pauloensis*, capturadas a campo y colocadas en confinamiento, para iniciar nuevas colonias. Los resultados obtenidos indicaron que la especie *B. morio* inició nuevas colonias en menor proporción (40,9%) que *B. pauloensis* (65,63%) en situación de confinamiento bajo las condiciones aquí aplicadas (27°C y 65% HR). Estos hallazgos difieren parcialmente de estudios previos. En Brasil, Aguilar Benavidez (2008) reportó un mayor éxito de iniciación para ambas especies mantenidas en condiciones de confinamiento entre 28 y 30°C en cajas de madera. Se estima que la diferencia de éxito obtenido por esta autora se debe a que sus resultados están expresados en función al total de la combinación de diferentes métodos para inducir la postura (métodos usados según Sladen, 1912; Duchateau, 1985; Delaplane, 1996; Gretenkord, 1997) y de la suma total de los individuos de ambas especies. En el presente trabajo de tesis, se analizaron las especies por separado con el fin de poder observar las características bionómicas de la oviposición sin intervención alguna, más que las explicadas, para lograr la adaptación al confinamiento. Por otro lado, Imran et al. (2017) investigaron los parámetros del ciclo de vida de *B. terrestris* utilizando tres materiales diferentes para la construcción de jaulas nido resultando que las jaulas nido de plástico favorecieron el inicio de colonias, siendo un 80% para plástico y un 50% para madera. A pesar de que en el presente trabajo no se puso a prueba el material cartón, los resultados obtenidos fueron coincidentes con los de Imran et al. (2017), tanto *B. pauloensis* como *B. morio* iniciaron más colonias en plástico (Jaula nido de inicio A) que en madera (Jaula nido de inicio B), aunque la diferencia sólo fue estadísticamente significativa para *B. pauloensis*, se obtuvo un 73,5% de inicios exitosos de colonias en

Jaula nido de inicio A, de plástico, y un 53,4% para Jaula nido de inicio B, de madera. Además, los resultados obtenidos son similares a los reportados por Yoon et al. (2004) para *B. ignitus* en jaulas nido de plástico. Esta similitud sugiere que la adaptación al confinamiento podría ser similar entre *B. ignitus* y *B. pauloensis*, a pesar de las diferencias entre las especies según el modo de alimentación larval.

Sumado a la mayor proporción de inicios de colonias en Jaulas nido de inicio A, de material plástico, la oviposición tarda menos tiempo (seis días), en comparación con los inicios en Jaulas nido de inicio B, de madera, lo cual también coincide con lo reportado por Imran et al. (2017) y por Yoon et al. (2004).

Por otro lado, el volumen de las jaulas de inicio también parece ser un factor en la adaptación de las especies *B. terrestris* y *B. pauloensis*. Al comparar los resultados de este trabajo con los obtenidos por Imran et al. (2017) en jaulas de inicio madera, (Jaulas nido de inicio B en este trabajo), se observa una similitud en el porcentaje de iniciación (50%) en ambas especies. Esto, considerando el volumen similar de las jaulas utilizadas en ambos estudios, sugiere una adaptación común al tamaño de las jaulas de inicio.

Estos hallazgos respaldan los resultados de estudios previos y resaltan la importancia de tener en cuenta tanto el volumen como el material de construcción de las jaulas nido a la hora de diseñar protocolos de cría de abejorros en confinamiento, que resultaría en un desarrollo más acelerado y un incremento en el número de colonias exitosas.

En cuanto al sitio elegido para la construcción de la celda huevo inicial de oviposición, Sakagami (1976) informó que las especies europeas tendían a nidificar sobre una masa de polen según habían reportado Sladen (1912) y Alford (1975). A su vez, Garófalo (1979) observó que la especie *B. pauloensis* inició en el piso de la caja nido, salvo una excepción en que la reina inició en el recipiente que contenía el polen ofrecido como alimento. En el presente trabajo, al realizar el análisis del lugar elegido por la especie *B. pauloensis* para iniciar la construcción de la celda huevo inicial (cartón vs. pellet de polen) se pudo concluir que el sustrato “cartón” fue predominante y el mismo se corresponde con el piso de las jaulas

de inicio, presentando dicha elección una diferencia significativa con el sustrato “pellet de polen”. Este resultado coincide entonces con lo reportado por Garófalo (1979) para la especie *B. pauloensis*. Para la especie *B. morio* se constató que no presenta preferencia por iniciar la construcción de la celda huevo inicial en un sustrato en particular, aunque es importante mencionar que este resultado puede estar influenciado por la baja representatividad de inicios exitosos por parte de la especie, por lo que sería aconsejable realizar más pruebas para obtener un resultado concluyente.

La preferencia por ciertos materiales y condiciones específicas destaca la necesidad de personalizar los enfoques de cría para cada especie.

## Conclusiones

En este capítulo se destaca que *Bombus pauloensis* es la especie más abundante en los dos sitios monitoreados de la provincia de Tucumán. Los resultados respecto a la capacidad de reinas de *Bombus* sp. para iniciar colonias en confinamiento indican diferencias significativas entre las especies analizadas, con *B. pauloensis* mostrando mayor capacidad para iniciar nuevas colonias en confinamiento en comparación con *B. morio*. *Bombus pauloensis* muestra una preferencia para nidificar con mayor éxito en el modelo Jaula nido de inicio A y para construir la celda huevo inicial en el piso de la caja, mientras que *B. morio* no exhibe una preferencia marcada con respecto al sustrato de inicio ni respecto a los dos tipos de jaulas utilizadas en este estudio. En conjunto, los resultados respaldan, parcialmente, el potencial de adaptación de *B. pauloensis* al confinamiento.

Caracterización del desarrollo de colonias en  
confinamiento



## Introducción

Los intentos de domesticación de abejorros datan de mucho tiempo atrás. En su libro *The Humble-bee*, Sladen (1912) reportó los primeros resultados exitosos en la cría de colonias de especies europeas. Con el pasar de los años, numerosos estudios permitieron sentar las bases de los parámetros óptimos para asegurar la cría de abejas nativas en confinamiento, incluyendo la temperatura, humedad relativa (HR) y las características de los alimentos a proveer (Velthuis & van Doorn, 2006), lo que permitió la cría de algunas especies europeas y norteamericanas (mayormente “almacenadores de polen”) en total confinamiento.

Las especies sudamericanas, incluidas *B. pauloensis* y *B. bellicosus*, pertenecen al grupo “hacedores de bolsillo”. A pesar de las dificultades, es posible criar las especies de este grupo adecuando y mejorando la técnica, existiendo experiencias de cría exitosa en Brasil (Garófalo, 1979), Colombia (Aldana et al., 2007; Cruz et al., 2008), Chile (Estay Palacios, 2007) y más recientemente en Uruguay (Salvarrey et al., 2013).

Cada colonia se inicia como una unidad subsocial a partir de una sola reina fundadora. La etapa eusocial se da con la generación de obreras infértiles, morfológicamente similares a la reina, pero de menor tamaño. Más adelante en el tiempo, se producen las reinas vírgenes y los zánganos, que se aparean, la colonia muere y las reinas fecundadas entran en diapausa hasta la primavera siguiente (Michener, 2007). Presentan un ciclo de vida anual, aunque en ciertas zonas de la región neotropical pueden presentar ciclos continuos (Moure & Sakagami, 1962; Cruz et al., 2008)

En la región neotropical, diversos investigadores han dedicado sus esfuerzos al esclarecimiento de la biología del desarrollo de polinizadores nativos como *B. pauloensis* (Sakagami et al., 1967; Zucchi, 1973; Garófalo, 1979, Rojas et al., 2003; González et al., 2004; Rojas, 2006; Aldana et al., 2007; Cruz et al., 2008; Torres & Gomez, 2008; Rojas Prieto & Cure, 2012; Pacateque et al., 2012; Salvarrey et al., 2013; Riaño et al., 2014) y en menor medida la especie *B. morio* (Laroca, 1976; Garofalo, 1978; Aguilar

Benavidez, 2008).

En Brasil, en el estado de San Pablo, trabajos con colmenas naturales de *B. pauloensis* trasladadas al laboratorio y conectadas al exterior para su alimentación independiente permitieron observar la construcción de celdas y puesta de huevos como actividad exclusiva de la reina (Sakagami & Zucchi, 1965; Garófalo, 1979). En la especie *B. pauloensis* el desarrollo de las larvas, originadas en una única celda de huevos, ocurre en una misma celda que se expande a medida que las larvas aumentan de tamaño, diferenciándose en celdas individuales y continuando su desarrollo hasta alcanzar el estado de pupa (Sakagami et al., 1967; González et al., 2004). La alimentación de los inmaduros se produce primeramente por regurgitación y luego por bolsillo (“pocket maker”) (Garofalo, 1979; González et al., 2004).

En contraste, en Argentina no se cuenta con estudios de rigor científico que aborden estos aspectos relacionados a la biología del desarrollo en entornos de laboratorio ni de campo para las especies de *Bombus* presentes en sus ecosistemas. Esta carencia resalta la necesidad de abordar el estudio sobre el desarrollo de las colonias de especies como *B. pauloensis* y *B. morio*, cuyas poblaciones son comunes en la provincia de Tucumán. En el presente capítulo se caracterizan las diferentes etapas de desarrollo del nido, se determinan la duración de los distintos estados de desarrollo, y analizan el desenvolvimiento de la progenie que conforma la colmena. Este enfoque resulta esencial no solo para avanzar en el conocimiento científico de estas especies en Argentina, sino también para fundamentar la importancia de la cría en confinamiento de *B. pauloensis*, abordando sus implicaciones biológicas, económicas y en la prevención de invasiones por especies de *Bombus* exóticos.

1. El **objetivo general** de este capítulo es caracterizar, para las especies *B. pauloensis* y *B. morio*, el desarrollo integral de sus colonias en confinamiento, incluyendo aspectos de su biología, éxito reproductivo, influencia del tipo de Jaulas nido construidas (Jaula nido de inicio A, plástico, vs. Jaula nido de inicio B, madera) y la respuesta a dos jarabes de alimentación diferentes.

La **hipótesis general** es que la supervivencia de las colonias y su biología varía entre especies y se ven significativamente afectadas por el tipo de jaula nido utilizado y el tipo de alimentación suministrado.

## Materiales y Métodos

### ***Éxito reproductivo***

El estudio se llevó a cabo con colonias obtenidas a partir de reinas capturadas en la naturaleza (ver sitios en capítulo 2) de las especies *B. pauloensis* y *B. morio* hasta la presencia de ocho a diez obreras emergidas. A pesar de que construyeron celdas huevo iniciales, ninguna de las reinas de la especie *B. morio* confinadas obtuvo obreras por lo que únicamente se completó el estudio del desarrollo de *B. pauloensis*.

El éxito reproductivo fue definido como la obtención de hasta 10 obreras por cada reina en su respectiva colonia. Una vez alcanzado este número de individuos (8 - 10), cada colonia (que incluía a la reina, obreras y cría en diferentes estados de desarrollo) fue trasladada a las "Jaulas nido final". Durante esta etapa, se registraron a través de fotografías y filmaciones, todas las actividades realizadas por la reina y obreras dentro de la jaula de inicio mediante una cámara réflex Canon EOS T5i. En los casos en que fue necesario, las obreras y la reina de cada colonia se extrajeron y se colocaron en colmenas independientes para llevar a cabo un registro gráfico del desarrollo del nido.

### **Alimentación de la colonia durante todas las etapas**

La alimentación constó de dos ofertas nutricionales diferentes: carbohidratos y proteínas. La fuente de carbohidratos fue ofrecida en forma de jarabe líquido bajo dos formulaciones, común y enriquecido nutricionalmente. La fuente de proteínas consistió en polen fresco recolectado por *A. mellifera*, en forma de pellet. Los detalles de cada uno de ellos se encuentran explicados en la sección Materiales y

Métodos del capítulo 1.

***Seguimiento del desarrollo de las colonias.***

Para la obtención de datos se procedió al seguimiento de cada colmena mediante observaciones detalladas por 15 minutos dos veces por semana, complementadas con registros adicionales periódicos durante las tareas de control y recambio de alimento. Estos datos contribuyeron a un trabajo de registro que incluyó la descripción general de eventos clave en el nido, como la construcción de la primera celda de cría o celda huevo inicial de la colonia (Ci), la emergencia de la primera obrera y el desarrollo de la colonia.

Se estudiaron, mediante observación, aspectos biológicos fundamentales como:

- Comportamiento de las reinas que produjeron descendencia: aceptación del alimento (jarabe y polen), acicalamiento, construcción de celda huevo inicial (primer celda de cría) y celdas huevos (es decir, celdas conteniendo huevos cuya construcción es posterior a la primer celda de cría), número y posición de los huevos depositados en las celdas, construcción del primer vaso de alimentación (antes o después de la primer celda), depósito de jarabe en el vaso de alimentación por regurgitación (si ocurriera), construcción de bolsillo, cantidad de días para su construcción.
- Desarrollo de la colonia: estimación de la cantidad de larvas en celdas larvales comunes, estimación de la duración del ciclo larval, modo de alimentación de larvas, presencia de pupas, estimación de la duración del estado de pupa, emergencia de adultos y comportamiento de los mismos.

Para estimar el tiempo de vida de las obreras se procedió a numerarlas a medida que emergían utilizando un kit comercial de marcaje de reinas tipo 1 que contiene cinco tarjetas con discos de 2,5mm de diámetro de colores rojo, azul, verde, amarillo y blanco, numerados del 1-99 y un pegamento especialmente desarrollado para no comprometer la salud de las abejas. El resultado esperado no se

produjo ya que la mayoría de las obreras se quitaban estos números, ya sea por sí mismas con el segundo par de patas o asistidas por otras, lo que llevó a una estimación basada en un número reducido de obreras que permanecieron numeradas, generando resultados con cierta variabilidad.

### **Análisis de los datos**

Para determinar y comparar el éxito reproductivo de la especie *B. pauloensis* en relación con los dos jarabes utilizados y las diferentes jaulas nido de inicio (Jaula nido de inicio A: plástico y Jaula nido de inicio B: madera) se calculó el porcentaje de colonias con hasta 10 obreras en cada situación.

### **Análisis estadístico**

Primeramente, se analizó el tiempo de desarrollo, desde el huevo hasta la eclosión del capullo, (con la consecuente emergencia del adulto), analizando el tiempo de duración de los estados de desarrollo huevo, larva y pupa.

El establecimiento del último estado de desarrollo (estado de pupa) se realizó en base a estudios previos que consideraban la pupación como el período entre la formación del capullo (hilado del mismo por parte de la larva) y la eclosión del mismo por parte del individuo adulto (Sutcliffe & Plowright, 1990; Cnaani et al., 2000).

Se analizó el tiempo de desarrollo de los individuos en 3 etapas definidas de la siguiente manera:

- Etapa 1, huevo: se midió el tiempo de eclosión de los huevos, desde la construcción de la celda huevo inicial hasta la aparición del bolsillo y/o el aumento de tamaño de las mismas, confirmándose la aparición de las larvas mediante la apertura de la respectiva celda.
- Etapa 2, larva: se midió el tiempo de duración del ciclo larval contando los días desde el aumento de tamaño de la celda y/o construcción del bolsillo hasta que la larva empezó a hilar el capullo.
- Etapa 3, pupa: desde el hilado del capullo, pasando por el estadio de pre-pupa y el estadio de pupa hasta la eclosión del capullo. Se midió la duración de los tres estados de desarrollo en días.

Mediante la sumatoria de la duración de todos los estados de desarrollo se obtuvo el tiempo total de desarrollo (duración del estado pre-imaginal).

Para evaluar si el jarabe enriquecido ofrecido a las reinas influyó en el desarrollo pre-imaginal de las obreras fueron comparados los tiempos de desarrollo respecto a los registrados en colonias mantenidas con jarabe regular (agua y azúcar 1:1).

Para estos análisis se utilizó el programa estadístico IBM SPSS v. 22.0. En ambos casos (tipo de jaula nido de inicio y de jarabe), se aplicó un modelo lineal mixto generalizado (MLMG) con una distribución de Poisson y una función del enlace de logaritmo. Las variables “Jaula nido de inicio” y “jarabe” y su interacción han sido incluidos como factores fijos o variables categóricas, mientras que “reina” (cada una de las colonias estudiadas) fue bloqueado, (es un factor de bloqueo o random effect, es un campo cuyos valores en el archivo de datos pueden considerarse una muestra aleatoria de una población de valores más grande). Las medias han sido comparadas mediante LSD (Least significance difference: mínima diferencia significativa) con un nivel de significancia del 5%.

## Resultados

### ***Éxito reproductivo***

En aquellas colonias en las cuales se utilizó “jarabe común”, se observó que el éxito reproductivo, definido como la obtención de hasta 10 obreras por cada reina, fue mucho menor que el obtenido con el uso del “jarabe enriquecido” (Tabla 7). Esta disparidad fue evidente tanto en las Jaulas nido de inicio A, de plástico, como en las Jaulas nido de inicio B, de madera, con una diferencia del 63,6% y 53%, respectivamente.

**Tabla 7: Porcentaje de éxito reproductivo (colonias con hasta 10 obreras) de la especie *B. pauloensis* en dos tipos de jaulas de cría para colonias desarrolladas con “jarabe común” (n en plástico = 46 y n en madera = 38) y**

“jarabe enriquecido” (n en plástico = 21 y n en madera = 16).

Éxito Reproductivo		
Tipo de Jarabe	Jaulas nido de inicio A (plástico)	Jaulas nido de inicio B (madera)
Común	17,4	15,8
Enriquecido	81	68,75

A su vez, se destaca que el porcentaje de reinas con descendencia también fue mayor en Jaulas de inicio A, de plástico, cuando se utilizó "jarabe común" en comparación con aquellas construidas con madera.

### Resultados del análisis estadístico

El análisis de los resultados revela que, al emplear "jarabe enriquecido", existe una diferencia significativa en el tiempo de desarrollo del estado huevo y, por ende, del desarrollo pre-imaginal (Tabla 8). En cuanto al tiempo de desarrollo larval, no se observan diferencias significativas entre los tipos de jaulas al utilizar "jarabe enriquecido"; sin embargo, al utilizar "jarabe común", se registró un menor tiempo de desarrollo larval en las Jaulas de inicio B, de madera. Cabe destacar que, para el tiempo de desarrollo de la pupa no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

**Tabla 8: Duración de las etapas de estudio de los estados de desarrollo preimaginal (huevo, larva y pupa), de la especie *B. pauloensis* en relación al tipo de Jaula nido de inicio vs. jarabe (común = azúcar + agua; enriquecido= azúcar + azúcar invertido + Nutribee) expresado en días. (Letras diferentes después de las medias de cada fila indica diferencias significativas).**

Jaula nido vs. Jarabe (n = 280)				
Jarabe	Jaula nido de inicio A (plástico)		Jaula nido de inicio B (madera)	
	Común ± DS	Enriquecido ± DS	Común ± DS	Enriquecido ± DS
Huevo	6,83 ± 0,2A	5,18 ± 0,1B	7,07 ± 0,25C	6,36 ± 0,1D
Larva	18,88 ± 0,3A	12,95 ± 0,2B	15,75 ± 0,2C	13,1 ± 0,2B
Pupa	12,8 ± 1,8A	11,74 ± 1,8A	11,7 ± 1,6A	11,31 ± 1,9A
Pre-imaginal	38,38 ± 0,5A	29,89 ± 0,3D	34,53 ± 0,6B	30,86 ± 0,3C

MLMG = Huevo: F (1;276) = 9.843; P = 0.002. Larva: F (1;276) = 29,886; P = 0,000. Pupa: F (1;276) = 1,310; P = 0,253. Pre-imaginal: F (1;276) = 27,505; P = 0,000. Ref.: F: estadístico de Wald + P (significancia).

Con respecto a los dos tipos de Jaulas nido de inicio utilizadas, al analizar su efecto en los tiempos de desarrollo sin incluir la variable “jarabe”, se evidencian diferencias significativas en los diferentes estados del desarrollo de la especie (Tabla 9).

**Tabla 9: Duración de las etapas de estudio correspondientes a los estados de desarrollo pre-imaginal (huevo, larva y pupa), de la especie *B. pauloensis* expresados en días ( $\pm$  Desvío estándar) con respecto al tipo de Jaula nido de inicio (n plástico = 172 y n madera = 108). (Letras diferentes después de cada media indica, en una misma fila, diferencias significativas).**

<b>Tipo de Jaula nido</b>		
	<b>Jaula de inicio A (plástico)</b>	<b>Jaula de inicio B (Madera)</b>
	(n =172)	(n =108)
<b>Huevo</b>	5,9 $\pm$ 0,1A	6,7 $\pm$ 0,14B
<b>Larva</b>	15,64 $\pm$ 0,2A	14,36 $\pm$ 0,2B
<b>Pupa</b>	12,23 $\pm$ 0,15A	11,51 $\pm$ 0,2B
<b>Pre-imaginal</b>	33,87 $\pm$ 0,3A	32,64 $\pm$ 0,3B

MLMG = Huevo: F (1;276) = 19,694; P = 0.000. Larva: F (1;276) = 23.179; P = 0,000. Pupa: F (1;276) = 8,643; P = 0,004. Pre-imaginal: F (1;276) = 7,888; P = 0,005. Ref.: F: estadístico de Wald + P (significancia).

Se observa que, en el caso del tiempo de eclosión del huevo, la media del tiempo de desarrollo en Jaulas nido de inicio A, de plástico, es menor, pero para los estados de larva y pupa las medias son menores en las Jaulas nido de inicio B, de madera, así como también cuando se considera el tiempo del desarrollo total.

Al analizar las medias estimadas teniendo en cuenta los dos tipos de jarabes utilizados (sin incluir la variable “tipo de Jaula” en el análisis), también se observan diferencias significativas (Tabla 10), siendo significativamente menores para los tratamientos provistos de “jarabe enriquecido” en todos los estados de desarrollo.

**Tabla 10: Duración de las etapas de estudio correspondientes a los estados de desarrollo pre-imaginal (huevo, larva y pupa), de la especie *B. pauloensis* expresados en días ( $\pm$  Desvío estándar) considerando el jarabe proporcionado (jarabe común, n = 80 y jarabe enriquecido, n = 200). (Letras diferentes después de cada media en una misma fila indica diferencias estadísticamente significativas).**

	Jarabe	
	Común (n = 80)	Enriquecido (n =200)
<b>Huevo</b>	6,95 $\pm$ 0,16A	5,74 $\pm$ 0,09B
<b>Larva</b>	17,25 $\pm$ 0,25A	13,03 $\pm$ 0,13B
<b>Pupa</b>	12,22 $\pm$ 0,21A	11,53 $\pm$ 0,13B
<b>Pre-imaginal</b>	36,41 $\pm$ 0,4A	30,37 $\pm$ 0,22B

MLMG = Huevo: F (1;276) = 49,584; P = 0,000. Larva: F (1;276) = 252,876; P = 0,000. Pupa: F (1;276) = 7,994; P = 0,005. Pre-imaginal: F (1;276) = 190,857; P = 0,000. Ref.: F: estadístico de Wald + P (significancia).

Se destaca la reducción de todos los plazos de desarrollo en las Jaulas nido de inicio A, de plástico, lo que se podría explicar como el “efecto jarabe”, es decir, su impacto es tan significativo que modifica el “efecto del tipo de Jaula nido de inicio” (ver Tabla 8).

#### **Seguimiento de desarrollo de las colonias.**

Del total de 21 reinas de *B. pauloensis* que iniciaron colonias con jarabe enriquecido en Jaulas nido de inicio A, de plástico, 17 tuvieron descendencia, representando así un 80,94% de éxito en base al total de colonias iniciadas. De este porcentaje un 57,14% tuvo más de 10 obreras y un 23,80% tuvo menos. En cuanto a las Jaulas nido de inicio B, de madera, con el mismo jarabe, de un total de 16 reinas de *B. pauloensis* que iniciaron, el 68,75% tuvo descendencia (11 reinas), de las cuales ocho alcanzaron 10 obreras o más (50%) y tres presentaron menos de 10 obreras (18,75%) (Tabla 11).

**Tabla 11: Descendencia en colonias (en porcentaje), producidas por reinas de *B. pauloensis* confinadas en dos tipos de Jaulas nido de inicio (plástico o madera) discriminando colonias de bajo (menos de 10 obreras) y alto desempeño (10 o más obreras).**

Jaula nido	N	Bajo	Alto	Total
<b>Jaula nido de inicio A (plástico)</b>	21	23,80	57,14	80,94

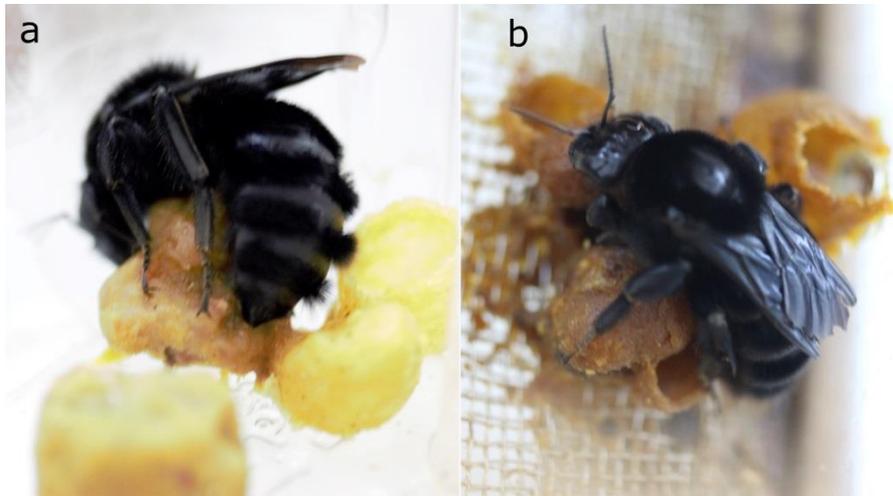
<b>Jaula nido de inicio B (madera)</b>	16	18,75	50,00	68,75
--	----	-------	-------	-------

---

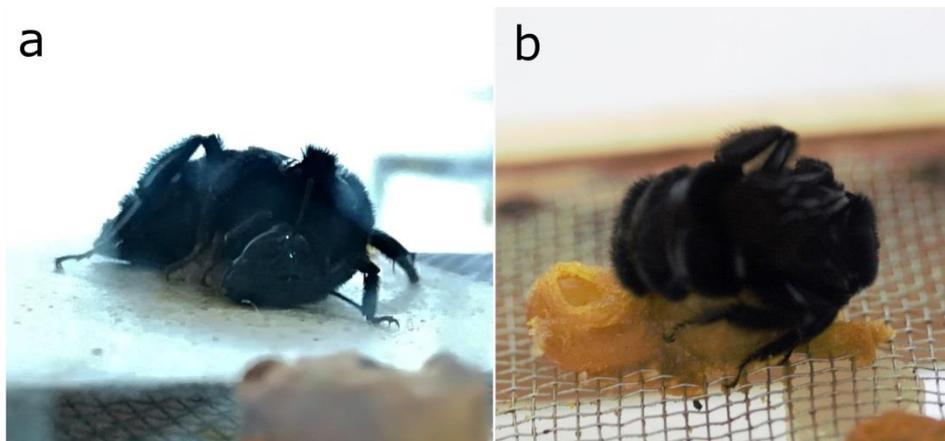
### **Comportamiento de la reina**

Durante los ensayos se observó que la reina sufre grandes cambios comportamentales. Una vez que da lugar a la construcción, puesta de los huevos y cierre de la celda huevo inicial (Ci), la actitud cambia de escapista, defensiva, y muchas veces agresiva, a sólo defensiva y protectora. El interés por escapar resulta prácticamente nulo y la mayor parte del tiempo se dedica a alimentarse, incubar la Ci, revisar su estado, construir el bolsillo y el vaso de alimentación y expandir la celda larval a medida que las larvas van creciendo.

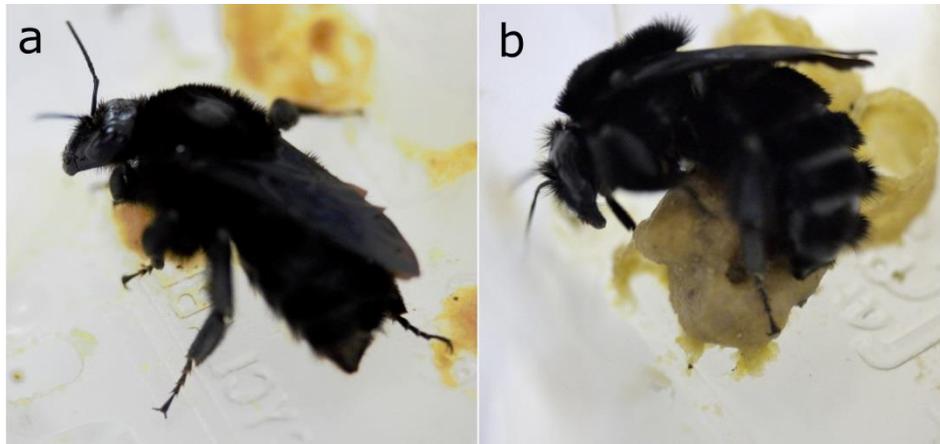
La incubación de la celda que contiene los huevos (celda huevo) puede ser realizada de diferentes maneras ya sea con todo el cuerpo apoyado sobre la celda en forma de medialuna sobre la parte superior de la celda (Fig. 10 a-b), o de costado apoyando la parte ventral del metasoma a alguno de los laterales de la celda y rodeando con sus patas el resto de la misma (Fig. 11 a-b). También puede ocurrir que la reina se coloque encima de la celda apoyando el mesosoma (Fig. 12 a) o la parte ventral del metasoma (Fig. 12 b). En todos los casos, realiza movimientos intermitentes, de contracción y relajación, con el metasoma.



**Figura 10:** Reinas de *Bombus pauloensis* incubando una celda huevo inicial (a) y una celda huevo (b) con todo el cuerpo adquiriendo una forma de medialuna.

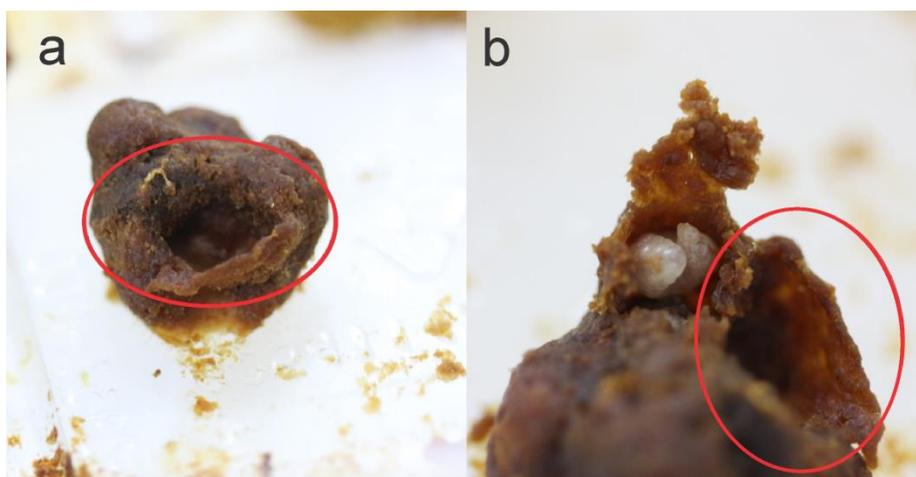


**Figura 11:** Reinas de *Bombus pauloensis* incubando la celda huevo inicial de costado. (a y b) las reinas apoyan la parte ventral del metasoma en alguno de los laterales de la celda y rodean con sus patas el resto de la misma.

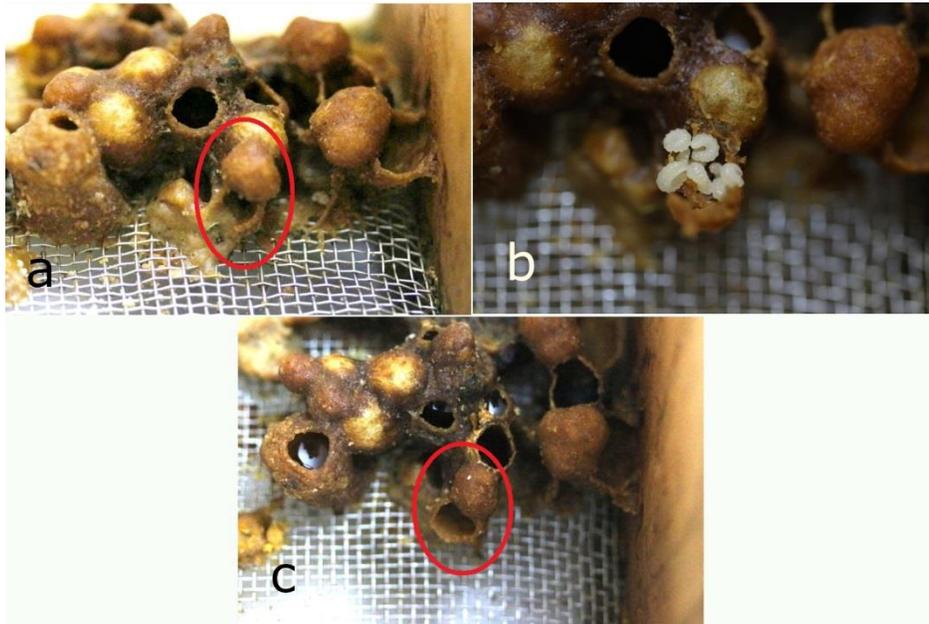


**Figura 12:** Reinas de *Bombus pauloensis* incubando la celda huevo inicial en la parte superior de la misma. (a) con la parte ventral del mesosoma o, (b) con la parte ventral del metasoma.

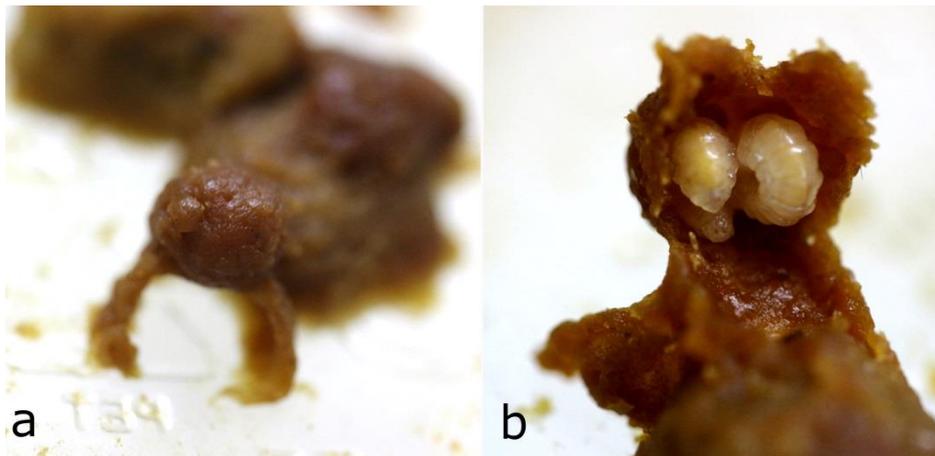
En las celdas huevo inspeccionadas (celdas de huevos subsecuentes a la primera puesta), la construcción del bolsillo de alimentación (Fig. 13 a) coincidió con la eclosión de los mismos (Fig. 13 b y Fig. 14 b). La construcción del bolsillo se inicia desde la celda con la formación de pilares (Fig. 14 a), los cuales se extienden hacia el exterior y se fusionan para formar la base de un círculo. Posteriormente, se lleva a cabo la construcción de las paredes del bolsillo hacia arriba. (Fig. 14 c). Muchas veces este elemento se manifestó como una invaginación en el borde externo de la celda hacia el interior de la misma y se observaron pilares de cera que se elevaban desde la base de la jaula hasta la celda larval (Fig. 15 a), aunque no siempre estaban completos en su estructura. En otros casos se observó la presencia de invaginación sin la construcción de pilares de cera (Fig. 16 a).



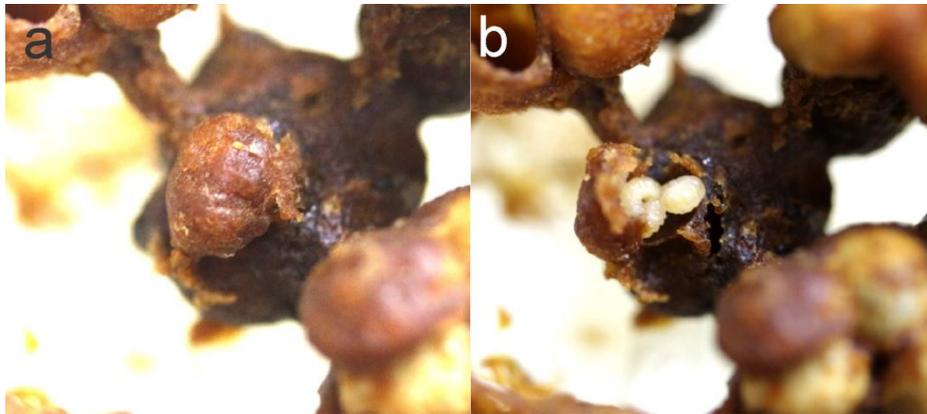
**Figura 13:** Bolsillo de alimentación en aparente celda huevo inicial. (a) vista frontal de bolsillo de alimentación larval completo. (b) vista lateral del bolsillo y aparente celda huevo abierta donde se observa una larva de reciente emergencia, por lo que se confirma que ya es una celda larval.



**Figura 14:** Etapas de formación del bolsillo de alimentación. (a) formación de pilares de cera desde la celda huevo sobre pellet de polen, resultando en un semicírculo sin cerrar. (b) vista de la misma celda (ahora celda larval), abierta, donde se observa que el contenido son larvas recién eclosionadas. (c) bolsillo completo en forma circular luego de 24 hs de obtener la imagen “a”.



**Figura 15:** Pilares e invaginación. (a) vista frontal de pilares e invaginación en supuesta celda huevo inicial. (b) larvas recientemente eclosionadas en supuesta celda huevo inicial, por lo que se confirma que ya es una celda larval.

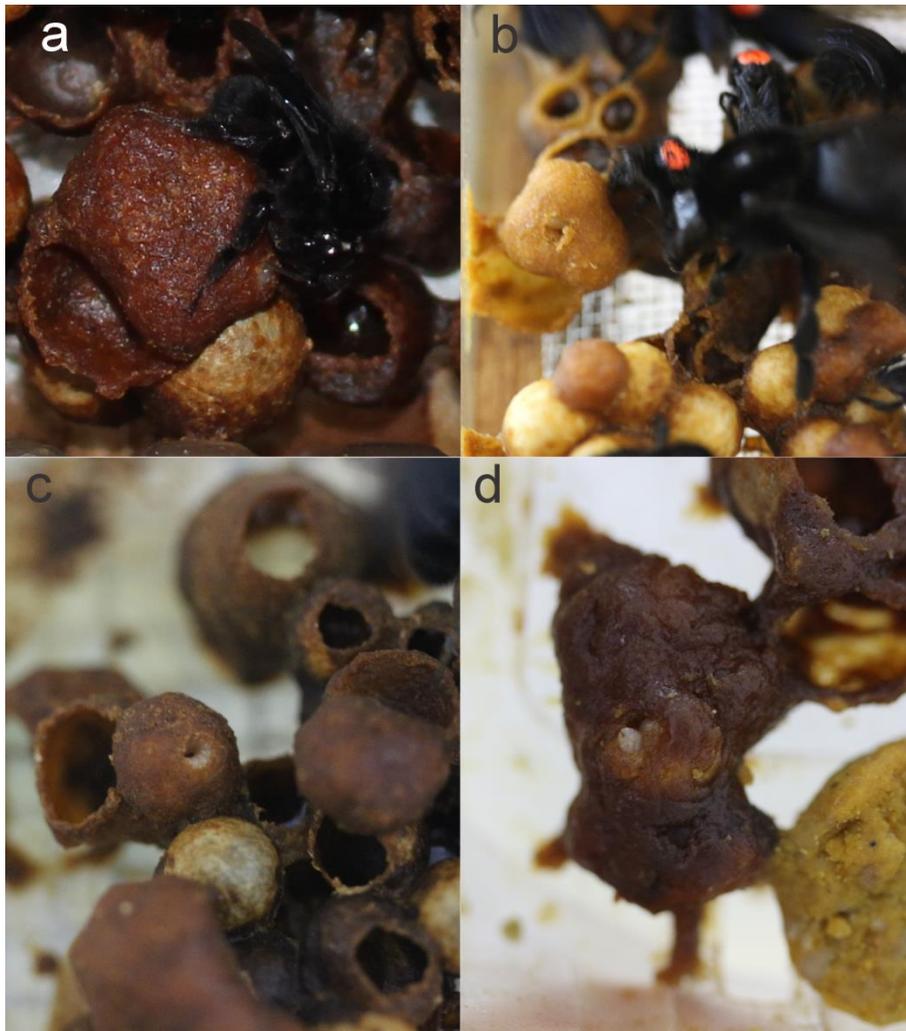


**Figura 16:** Vista frontal de la supuesta celda huevo inicial. (a) celda con invaginación sin presencia de pilares de cera. (b) celda con larvas recientemente eclosionadas.

A pesar de que se llevó a cabo la construcción de los bolsillos de alimentación, no se registró evidencia de su utilización durante el período de confinamiento (Fig. 17). Se constató que la alimentación de las larvas se realizó exclusivamente mediante regurgitación (Fig. 18 a), con la apertura de pequeñas aberturas en las celdas que albergaban las larvas (Fig. 18 b-d). Este proceso fue llevado a cabo tanto por la reina en la fase subsocial como por las obreras en la fase eusocial.



**Figura 17:** Vista superior de colonia con múltiples bolsillos construidos aunque vacíos.

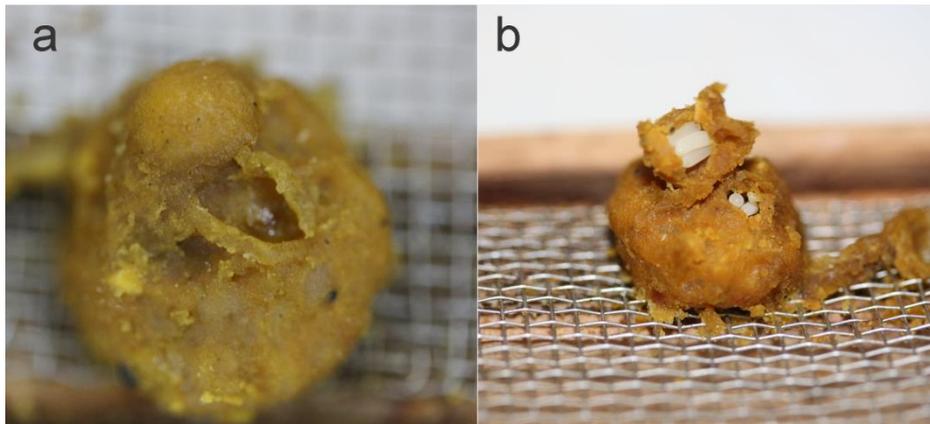


**Figura 18:** Alimentación larval. (a) obrera alimentando larvas por fenestración. (b) ventana de alimentación en celda con multiples larvas y (c) en larva única. (d) parte anterior de larva asomando por ventana de alimentación.

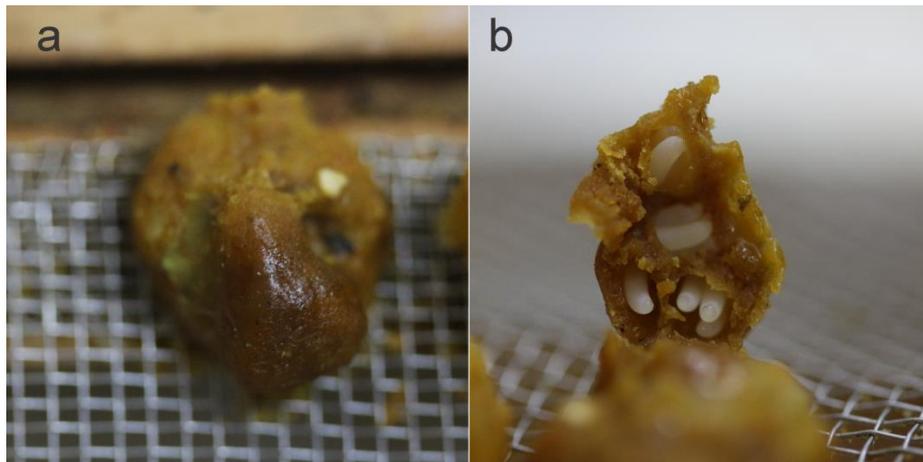
Dentro de los casos estudiados, se encontraron Ci que presentaban subdivisiones internas por la incorporación de paredes de cera. A simple vista, estas celdas parecían simples, sin particularidades que indicaran una configuración interna distinta; carecían de invaginaciones superficiales o niveles que sugirieran alguna división (Fig. 19 a), pero luego al abrirlas se descubrían compartimentos internos o subniveles (Fig. 19 b). En algunos casos se observó un alargamiento en uno de los extremos de la celda y un mayor volumen (Fig. 20 a). Los huevos se distribuyeron en cámaras separadas por tabiques de cera compartiendo una cobertura de cera común, es decir que al intentar abrir el conjunto se levantaba la

celda como si fuera única e individual (Fig. 20 b).

Debido a esta estructura, cada sub-celda fue tratada de manera individual al momento de contabilizar los huevos. Este enfoque se adoptó considerando que estas subceldas seguían el mismo patrón de postura que una celda convencional (derivando de la construcción de la base de la misma) puesta de huevos en cada subcelda y, posteriormente, la formación de una única cobertura.



**Figura 19:** Celda de inicio compuesta. (a) aparente Ci individual. (b) misma Ci abierta donde se observa que se encuentra dividida en dos secciones, con otra Ci en un subnivel.

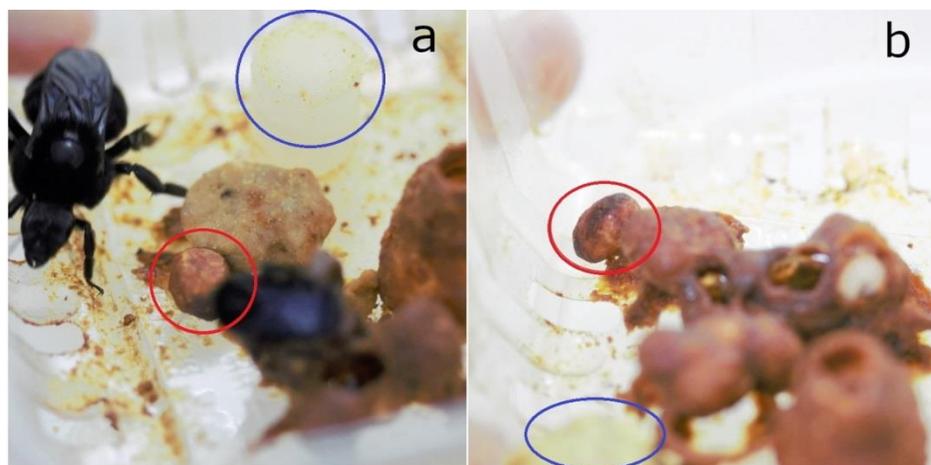


**Figura 20:** Ci compuesta. (a) con extremo alargado. (b) una vez abierta se observan 4 subceldas separadas por tabiques de cera.

### Desarrollo de la colonia

En la primera etapa de la cría (etapa subsocial), entre la puesta de la celda huevo inicial y el nacimiento

de la primera obrera), al encontrarse la reina sola, todas las estructuras (Ci, vaso y bolsillo) fueron construidas por ella. Asimismo, al eclosionar los huevos, las tareas de alimentación larval también fueron exclusivas de la reina. La cera utilizada por la reina para la construcción de las Ci es producida por sus propias glándulas. La forma de las Ci varió de redondeada a ovalada, pudiendo adquirir una forma más puntiaguda según la disposición de la reina durante la incubación. Tanto los vasos de alimentación, bolsillos y celdas larvales son de cera y experimentan cambios en su forma y aumentan de tamaño según sea necesario. Se han observado múltiples situaciones en las que las estructuras son “recicladas”, es decir, la reina usa parte de la cera de una estructura para formar otra. Este proceso confiere dinamismo a la estructura del nido que evoluciona y cambia de forma con el tiempo adaptándose a las necesidades emergentes de nuevas estructuras. También, por ejemplo, se observaron situaciones en las que pupas fueron traslocadas de una punta a la otra del nido (Fig. 21 a y b), así como algunos vasos de alimentación fueron completamente desarmados y armados nuevamente en otro sector del nido.



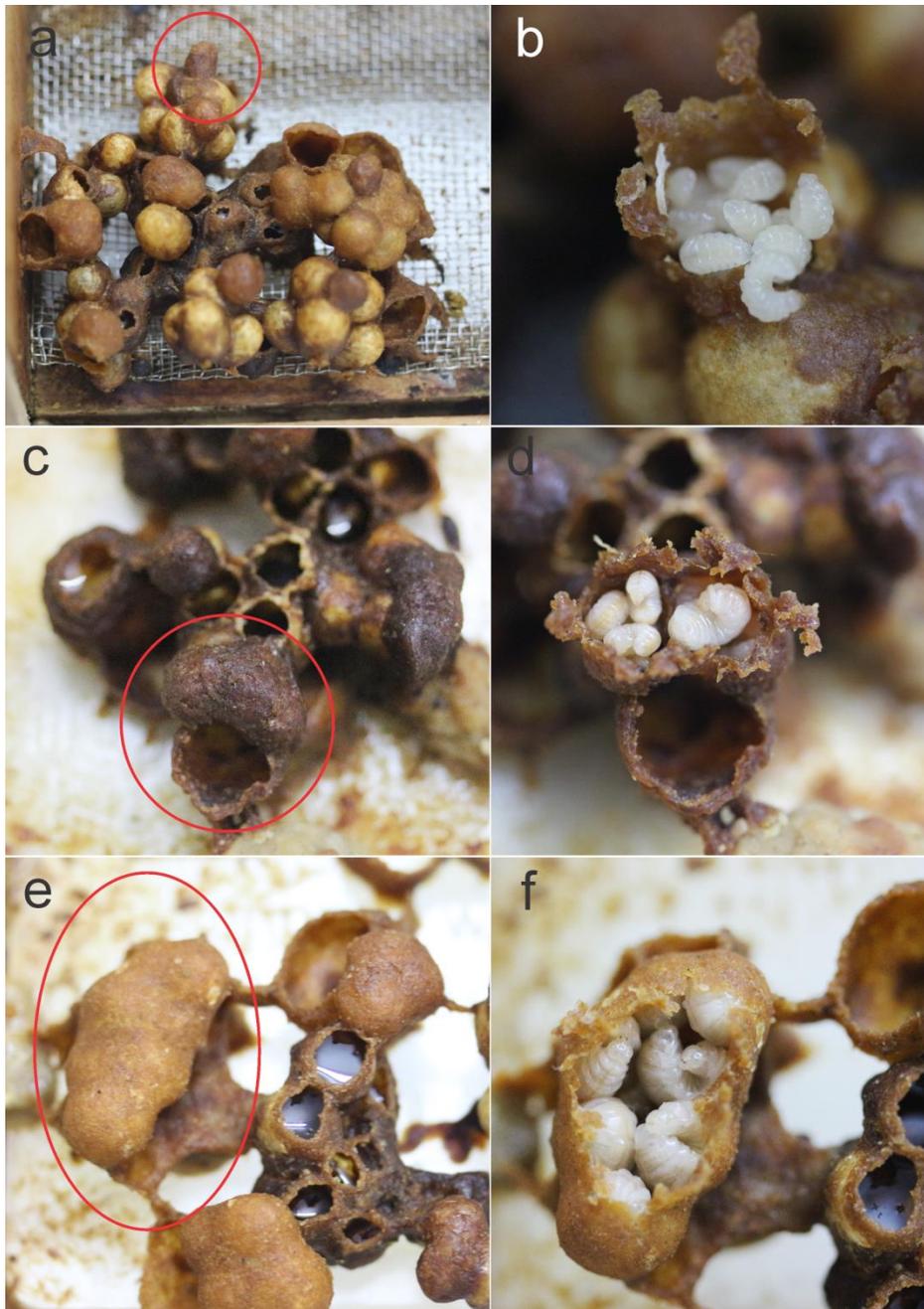
**Figura 21:** Traslocación de pupa. (a) se observa una pupa cercana a la mecha de alimentación (destacada con un círculo rojo), y (b) su traslocación a la parte opuesta de la jaula nido. Se puede observar la mecha de alimentación como referencia, destacado con un círculo azul: en la imagen “a” se encuentra, paralelo y hacia la derecha de la pupa y en la imagen “b” la mecha de alimentación se encuentra en la parte delantera de la imagen.

Una vez que las larvas han eclosionado, las celdas larvales adquieren una forma entre oval y redondeada. La celda que alberga las larvas es expandida superior y lateralmente a medida que las

larvas crecen, quedando conformadas por larvas de distintos tamaños (Fig. 22 a y b). Su dimensión no sólo varía de acuerdo a la cantidad de larvas que contienen sino también en relación al tamaño de cada larva en particular. De esta manera las celdas no presentan una forma regular (Fig. 23 a, c y e), más bien son cúmulos larvales que son expandidos por la reina o las obreras a medida que las larvas aumentan de tamaño por lo que no hay una metodología de medición que sea regular.

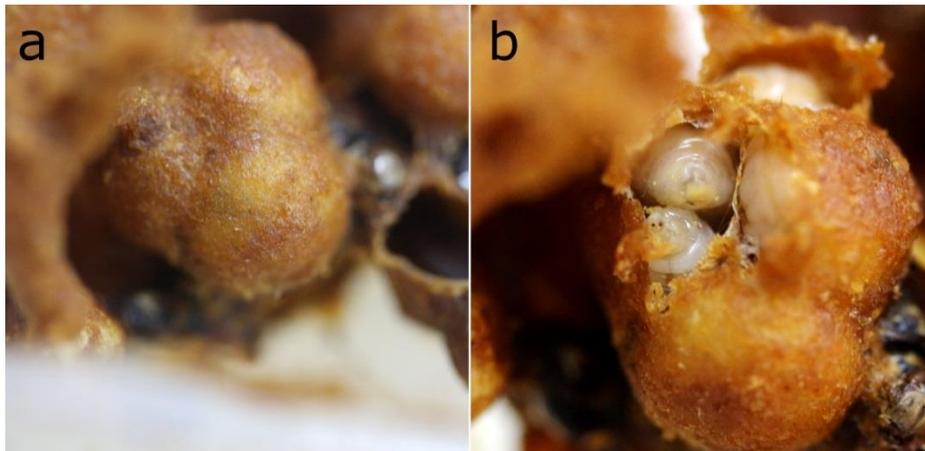


**Figura 22:** Celda larval. (a) cerrada. (b) abierta, donde se puede observar a simple vista que está formada por larvas de diferente tamaño



**Figura 23:** Celdas larvales. (a, c y e) cerradas, de diferentes formas y tamaños. (b, d y f) abiertas, exponiendo el contenido larval correspondiente.

Consecuente al crecimiento, la capa de cera se va volviendo cada vez más fina y las larvas van adquiriendo una cubierta individual más definida que permite dilucidar su posición en la celda y su forma (Fig. 24 a). En este punto, las larvas se acomodan adquiriendo la forma de C (Fig. 24 b), lo que resulta en una configuración más redondeada dentro de la celda individual (Fig. 24 a).



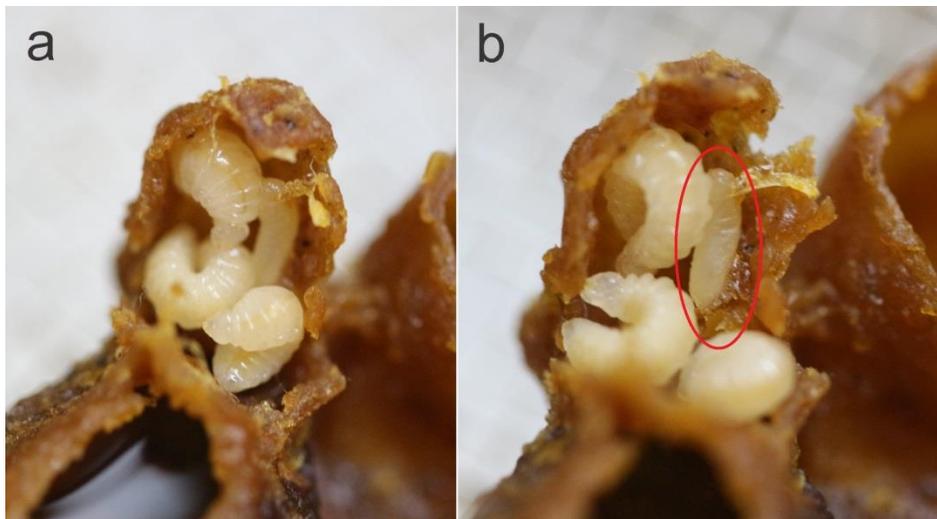
**Figura 24:** Celda larval. (a) cerrada, donde se puede estimar a simple vista la cantidad de larvas presentes (cuatro) debido a la fina cobertura de cera. (b) abierta, donde se observa la configuración en forma de C de la larva, y el inicio de la formación de la pupa mediante el hilado del cocón.

A partir de aquí, las larvas inician el proceso de hilado, de manera individual, para la formación del capullo dando paso a la fase de pupa, donde ocurre la metamorfosis que da lugar al adulto. La celda larval se va individualizando en torno a cada larva y va adoptando una forma más ovalada (más alargada que ancha). Luego la coloración se vuelve más clara, ya que el capullo de seda queda por debajo de la fina capa de cera que antes cubría a la larva. Esta capa de cera va siendo retirada y reutilizada a medida que la maduración de la pupa se produce. Como consecuencia, conforme al desarrollo de la pupa, su coloración se torna progresivamente más amarilla. Una vez cercano el día de la eclosión, se observa que el capullo se torna grisáceo, lo que se corresponde con el contenido de un adulto farado de coloración gris, siendo evidente que la cobertura externa ya es muy fina casi transparente, indicando un estado avanzado en el proceso de desarrollo.

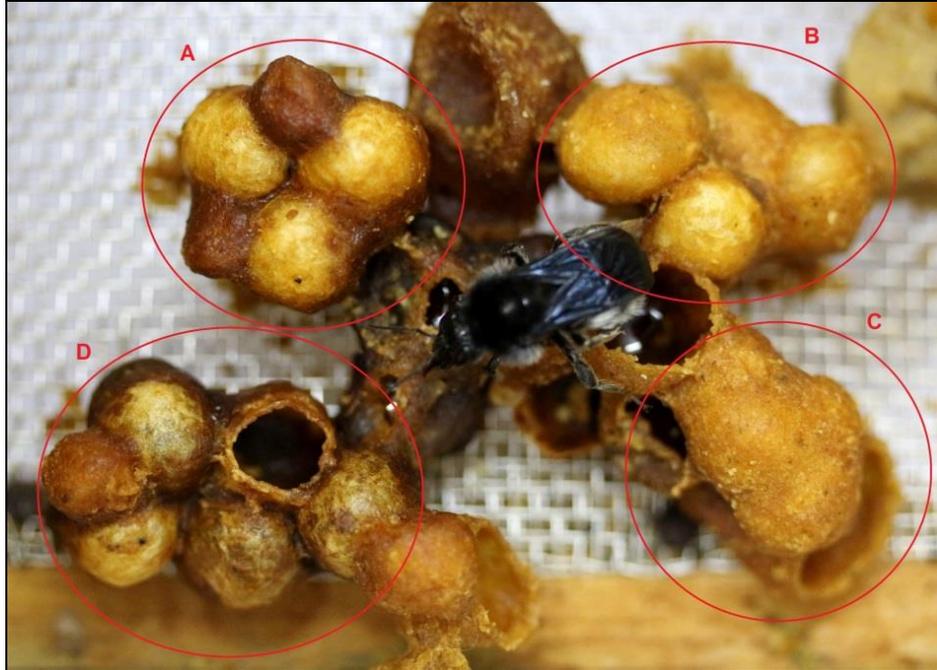
Todo el proceso del desarrollo preimaginal, desde la postura de la celda huevo hasta la formación de la pupa, se muestra en las figuras 25 - 30, detallando lo que ocurre en cada etapa en particular, para mejor entendimiento del proceso.



**Figura 25:** Colonia en desarrollo, vista en detalle. Círculo rojo A: celda larval (CL) con larvas de reciente eclosión. Círculo rojo B: celda huevo con su contenido de cuatro huevos al descubierto. Círculo rojo C: celda huevo con su contenido de cinco huevos expuestos. Círculo rojo D: celda larval, con larvas ya individualizadas previas a empupar.



**Figura 26 :** Detalle del contenido interno de la celda larval, (Círculo rojo A de la Fig. 25). (a) larvas recién eclosionadas con no más de 24hs aprox. (b) detalle de huevo todavía sin eclosionar siendo parte del conjunto ya eclosionado.



**Figura 27:** Avance de colonia en desarrollo 15 días después que la Fig. 25. Círculo A: pasó a ser ex-celda larval, ahora pupas recientes. Círculo B: ex celda huevo, ahora celda larval, donde, las larvas a izquierda, trasera y derecha están a punto de empupar, y la central ya se encuentra en estado de pre-pupa. Círculo C: ex celda huevo, ahora celda larval en desarrollo. Círculo D: ex celda larval a punto de empupar, ahora: dos pupas avanzadas a la izquierda, amarillas con la punta superior levemente grisácea, a la derecha dos pupas de color grisáceo denotando su contenido (adulto farado) y una ya abierta con el adulto correspondiente presente en el nido que puede verse en el centro de la foto.



**Figura 28:** Vista frontal en detalle de las celdas larvales B y C, destacadas en círculos rojos como B y C en la figura. 27.

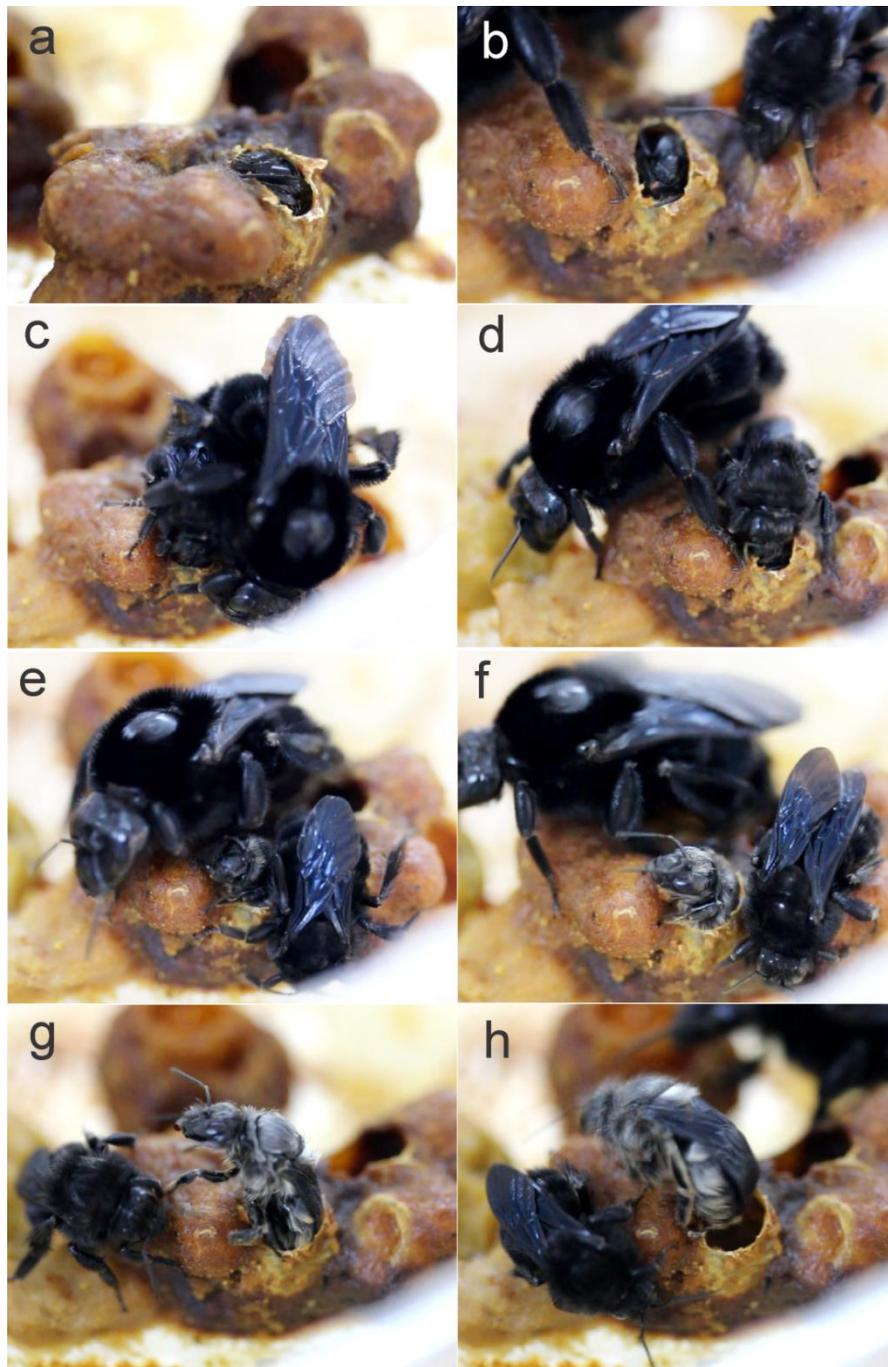


**Figura 29:** Vista en detalle de celda larval B, 24hs después de la imagen 28. (a) tres pre-pupas con la típica coloración ocre claro de la cera que recubre la superficie de cada una y una forma más oval. (b) vista en detalle de celdas larvales B y C 24hs después de la Fig. 28.



**Figura 30:** Avance de la colonia, 7 días desde la Fig. 27 y 22 días desde la Fig. 25. Se observa que, nacieron dos obreras de la celda larval A, queda una pupa grisácea y los capullos vacíos ya fueron utilizados como contenedores para jarabe (vasos de alimentación). Las celdas huevo B y C ya son pupas completas de color amarillo claro; mientras que también nacieron las obreras de las pupas en D y los capullos vacíos ya fueron reutilizados como contenedores de jarabe.

La salida del adulto de la celda se desencadena mediante la laceración de la parte superior del capullo desde su interior. Utilizando sus mandíbulas, el adulto procede a romper la seda hasta lograr hacer un pequeño orificio irregular que va ampliando hasta que la dimensión del mismo le permite asomar su cabeza (Fig. 31 a y b). En muchas ocasiones se observó a la reina (en su etapa solitaria) asistiendo la salida de la primera obrera, indicando un interés evidente en este proceso, aunque no se registró una participación activa, como por ejemplo, en el recorte del capullo (Fig. 31 c). En cambio, en el caso de las obreras, se notó una participación más extensa y aparentemente intencionada en la asistencia activa durante el proceso de emergencia (Fig. 31 d). Luego con la ayuda de sus patas delanteras se impulsa hacia arriba y finalmente libera su cuerpo del capullo hacia el exterior (Fig. 31 e-h).



**Figura 31:** Salida de la obrera del capullo. (a y b) rotura de la seda y ampliación del orificio generado. (c) acompañamiento de la reina y (d) asistencia activa de la primera obrera de la colonia en el recorte del capullo. (e y f) salida de cabeza y primer par patas respectivamente, (g) salida de tórax, segundo par de patas y (h) abdomen del capullo.

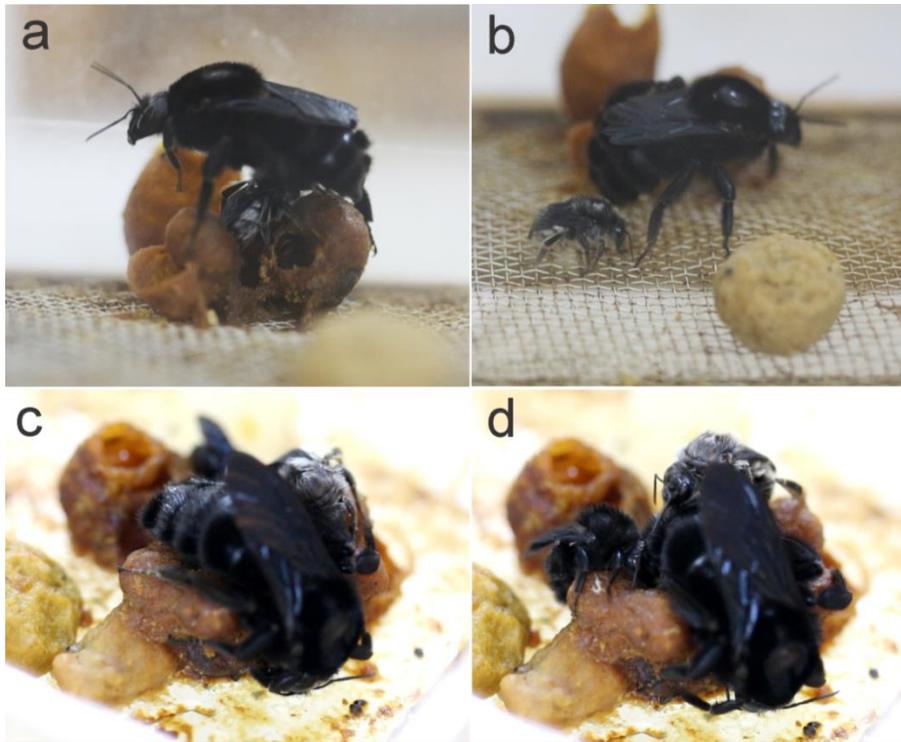
En la mayoría de los casos, tras la salida de la primera obrera, se observa un patrón característico de comportamiento. La obrera inicialmente se alimenta, toma el jarabe acumulado en el vaso de

alimentación (Fig. 32 a) y posteriormente consume polen (Fig. 32 b), o viceversa. Luego, la obrera interactúa con la reina, limpia el capullo del cual salió y, aproximadamente luego de 24 horas, se dispone a incubar.



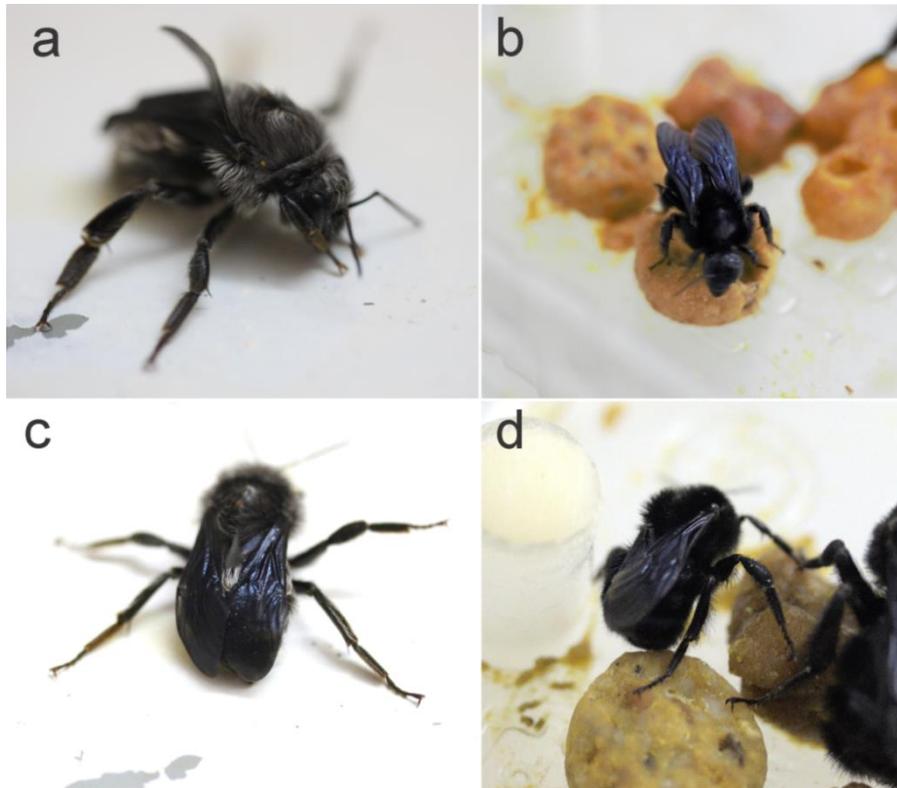
**Figura 32:** Obrera recién salida del capullo alimentándose por primera vez. (a) del vaso de alimentación y (b) del pellet de polen.

La interacción con la reina se manifiesta como una fase prolongada en la cual la obrera se posiciona debajo del cuerpo de la reina y permanece en proximidad. Si la reina recorre el nido la obrera la sigue, inspeccionando activamente el entorno (Fig. 33 a-d). Este comportamiento sugiere un nivel significativo de interconexión y comunicación entre la obrera y la reina durante este período temprano del desarrollo de la colonia.



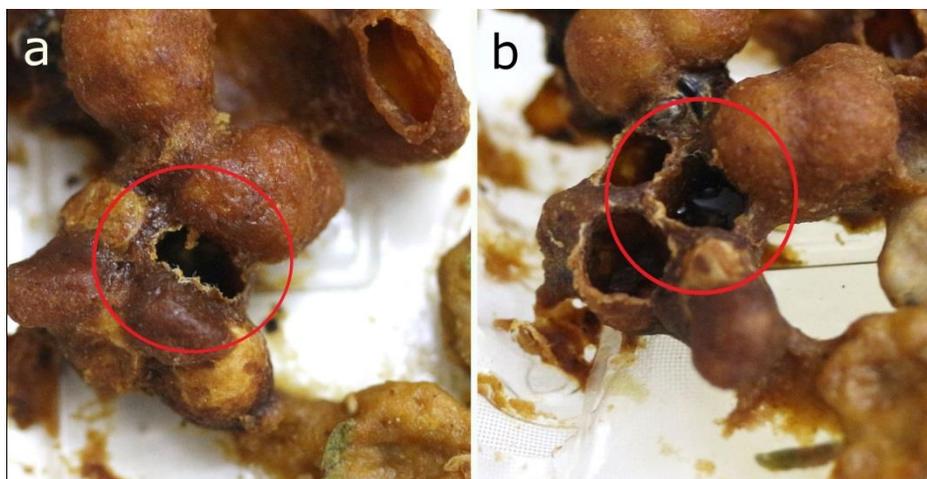
**Figura 33:** Interacción reina - obrera recién salida del capullo. Tomando como ejemplo un caso en (a y b) Jaula nido de inicio B, de madera, y otro en (c y d) Jaula nido de inicio A, de plástico, donde se observa que la obrera se mantiene muy próxima a la reina.

Una obrera recién salida del capullo, exhibe una característica coloración gris (Fig. 34 a), con la porción final de las alas ligeramente curvada hacia abajo (Fig. 34 c). Sin embargo, al cabo de 24 horas desde su salida, experimenta un cambio notable, adoptando una coloración completamente negra (Fig. 34 b), y las alas adquieren la rectitud característica (Fig. 34 d). En este punto, resulta indistinguible de una obrera que salió anteriormente.



**Figura 34:** Evolución de obrera recién salida y luego de las 24hs. (a) obrera recién salida de coloración gris, (c) con la pilosidad aún pegada al cuerpo y las alas plegadas. (b) obrera de más de 24 hs. de salida del capullo con pilosidad negra y (d) las alas rectas.

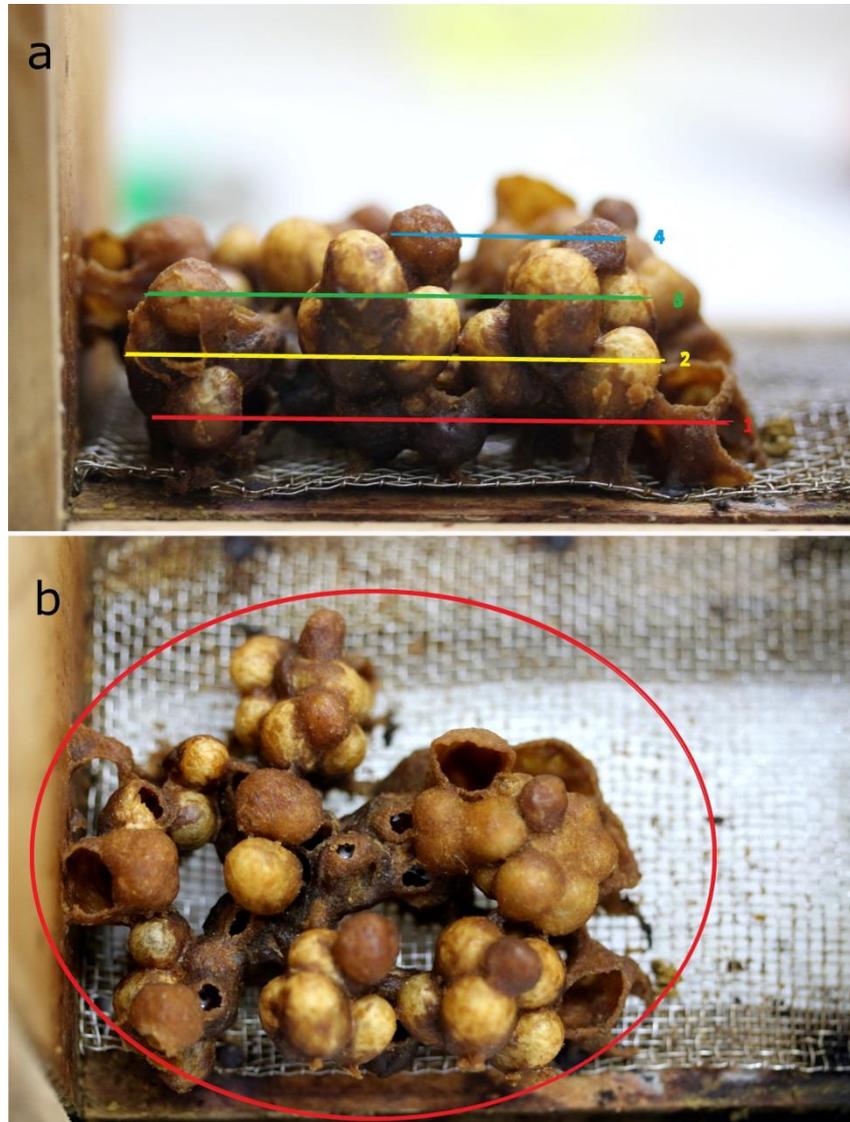
Los capullos de pupas recién salidas (Fig. 35 a) experimentan un cambio funcional, pasando a desempeñar el papel de reservorio de jarabe. Estos capullos, en muchos casos, son modificados para ser utilizados como vasos de alimentación donde se deposita el jarabe (Fig. 35 b). Estas modificaciones suelen implicar el emparejamiento de la abertura mediante recortes en los bordes que luego son recubiertos de cera. Este proceso evidencia una adaptación continua en la estructura del nido en función de las necesidades cambiantes de la colonia.



**Figura 35:** Transformación de capullos. (a) capullo vacío de obrera recién salida vacío. (b) el mismo capullo vacío ya transformado en vaso de alimentación con jarabe depositado.

A partir de este momento, se inicia la distribución de las tareas dentro de la colonia. La/s obrera/s realizan tareas de alimentación, reconstrucción, inspección, e incubación por igual. Con la salida de la décima obrera, la colonia se torna difícil de acceder y manejar, debido a que más obreras presentes pueden dedicarse a la defensa y protección de la colonia. En estos casos, aproximadamente la mitad de las obreras se dispone a preservar la cría manteniéndose encima de la misma, al igual que la reina, mientras que la otra mitad se dirige directamente hacia el lugar donde se produce la apertura de la colmena e intentan salir rápidamente para llevar a cabo acciones defensivas, ya sea con sus mandíbulas o con el aguijón.

El crecimiento del nido se manifiesta expandiéndose hacia la periferia y hacia arriba, formando varios niveles o estratos (Fig. 36 a) en forma de círculos irregulares ascendentes (Fig. 36 b). Este fenómeno se debe a que las nuevas celdas huevo se colocan sobre celdas larvales en su estadio final (pre-pupas) o sobre pupas recientes (con cera en su superficie). La nueva celda huevo, a su vez, se convertirá en una celda larval y, posteriormente, en pupas individuales, generando un nivel adicional de desarrollo en la colonia.



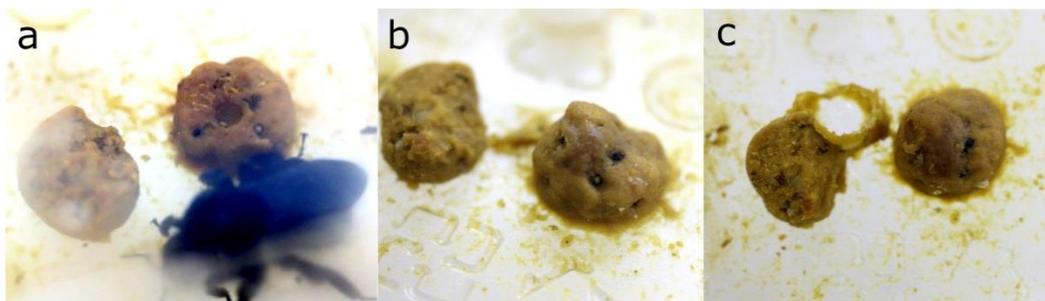
**Figura 36:** Desarrollo de la colonia. (a) vista lateral del desarrollo de una colonia donde se observan cuatro niveles de crecimiento hacia arriba, a los 77 días desde la celda huevo inicial. (b) vista superior del desarrollo, se observa que adquiere una forma semicircular que en este caso se encuentra limitada por las paredes de la Jaula nido de inicio.

Al analizar la secuencia de construcción del primer vaso de alimentación, se identificaron tres órdenes diferentes, detallados en la Tabla 12 (Patrón de construcción 1, Fig. 37 a–c; 2, Fig. 38 a–c y 3, Fig. 39 a y b). En las Jaulas nido de inicio A, de plástico, el 100% de las reinas que tuvieron descendencia construyeron al menos un vaso para néctar. Se observó un caso único en el cual una reina construyó el vaso de alimentación cinco días después de haber finalizado la construcción de la Ci. En cuanto a las

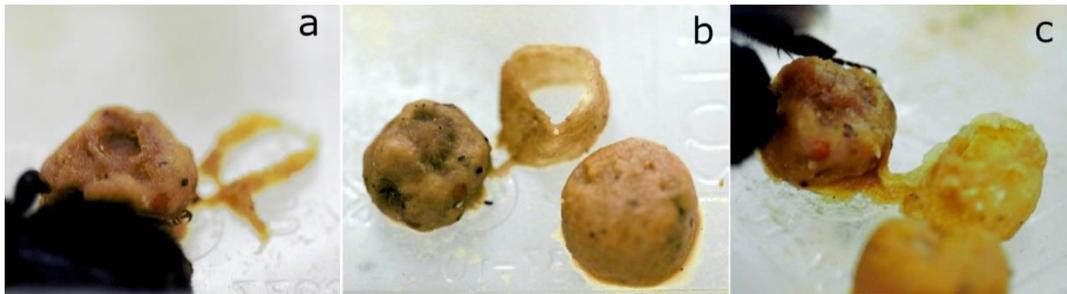
Jaulas nido de inicio B, de madera, una sola reina no construyó el vaso de alimentación y, en su lugar, construyó la Ci sobre la malla metálica justo por encima de la mecha de alimentación. En ambos tipos de jaulas nido (plástico y madera), la mayoría de las reinas inicia la construcción del nido con la base de la celda huevo inicial sugiriendo un patrón común en el comportamiento de construcción.

**Tabla 12: Secuencia de construcción de la celda huevo inicial (Ci) y vaso de alimentación seguido por las reinas de *Bombus pauloensis*, expresado en %, con respecto al total de reinas que iniciaron la construcción del nido en cada tipo de jaula nido de inicio respectivamente.**

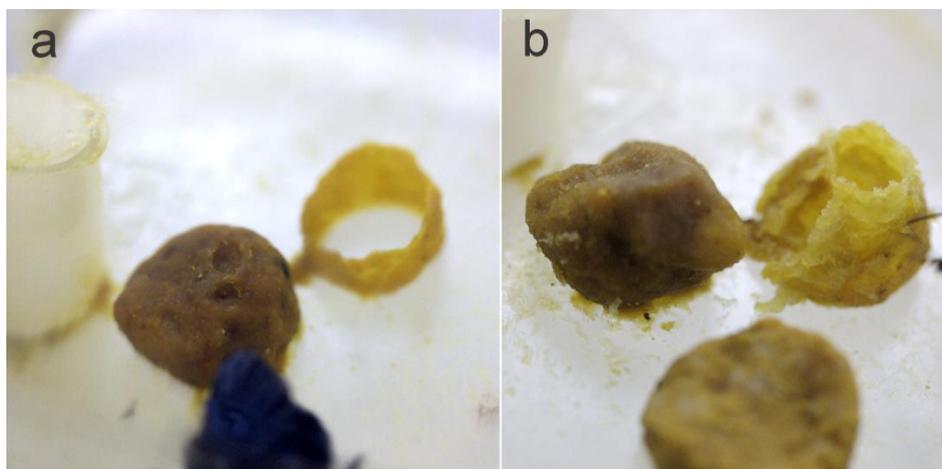
	Jaula nido de inicio A (plástico) n = 17	Jaula nido de inicio B (madera) n = 11
<b>Secuencia</b>	<b>%</b>	
<b>1° Base de Ci</b>		
<b>2° Ci completa</b>	82,36	81,25
<b>3° Vaso de alimentación</b>		
<b>1° Base de Ci</b>		
<b>2° Base de Vaso</b>	5,88	9,09
<b>3° Celda huevo completa</b>		
<b>1° Vaso de alimentación</b>		
<b>2° Base Ci</b>	11,76	0
<b>3° Ci Completa</b>		



**Figura 37:** Patrón de construcción 1: (a) base de celda huevo inicial en polen. (b) celda huevo inicial completa en polen. (c) inicio de construcción de vaso de alimentación.



**Figura 38:** Patrón de construcción 2: (a) base de celda huevo inicial en polen y luego base de vaso de alimentación. (b) celda huevo inicial completa y mitad de vaso y, (c) vaso completo.



**Figura 39:** Patrón de construcción 3: (a) primero vaso de alimentación y luego base de celda huevo inicial (b) celda huevo inicial completa.

Se analizaron un total de 77 celdas huevo construidas por reinas confinadas en jaulas de plástico y 62 en jaulas de madera. La Tabla 13 exhibe los resultados del contenido promedio de huevos depositados por las reinas en cada celda huevo, la cantidad más frecuente y la menos frecuente.

**Tabla 13:** Contenido promedio de huevos en las celdas huevo analizadas y su correspondiente desvío estándar (DS).

	Jaula nido de inicio A (plástico)	Jaula nido de inicio B (madera)
<b>Celdas huevo</b>	77	62
<b>Contenido promedio ± DS</b>	5,07±1,75	5,11±2
<b>Cantidad más frecuente</b>	5 y 4	4

Entre todas las celdas huevo analizadas (n=139), se identificó una pequeña cantidad (n=7) caracterizada por la presencia de subceldas internas (detallado en pág. 54). Al abrir estas estructuras, se observó que se encontraban tabicadas con cera, compartiendo una misma cobertura común. Debido a esto, cada subcelda se trató de manera individual al realizar el conteo de huevos, considerando que seguía el mismo patrón de postura que una celda individual, es decir la construcción de la base de la estructura, la puesta de huevos en cada subcelda y, luego construcción de una única cobertura (Tabla 14).

**Tabla 14: Número de celdas huevo formadas por subceldas en cada Jaula nido de inicio según el tipo de material de construcción, el número total de subceldas, la cantidad de huevos presentes en cada una y la orientación de los mismos.**

<b>Tipo de jaula</b>	<b>Celdas huevo con subceldas</b>	<b>Número de Subdivisiones</b>	<b>Cantidad de huevos en cada subdivisión</b>	<b>Orientación de huevos en cada subdivisión</b>
<b>Jaula nido de inicio A (plástico)</b> (n = 5)	1	3	2; 4 y 1	Horizontal
	2	2	4 y 2	Vertical
		1	5	Horizontal
	3	3	3; 3 y 3	Horizontal
	4	2	4 y 4	Vertical
	5	2	4 y 3	Horizontal
<b>Jaula nido de inicio B (madera)</b> (n = 2)	1	2	2 y 2	Horizontal
	2	2	3 y 4	Horizontal
		2	1 y 3	Vertical

A partir del conjunto total de celdas huevo (n=139, siendo 77 celdas en Jaulas nido de inicio A, de plástico, y 62 en Jaulas nido de inicio B, de madera), se llevó a cabo un análisis de la orientación de los

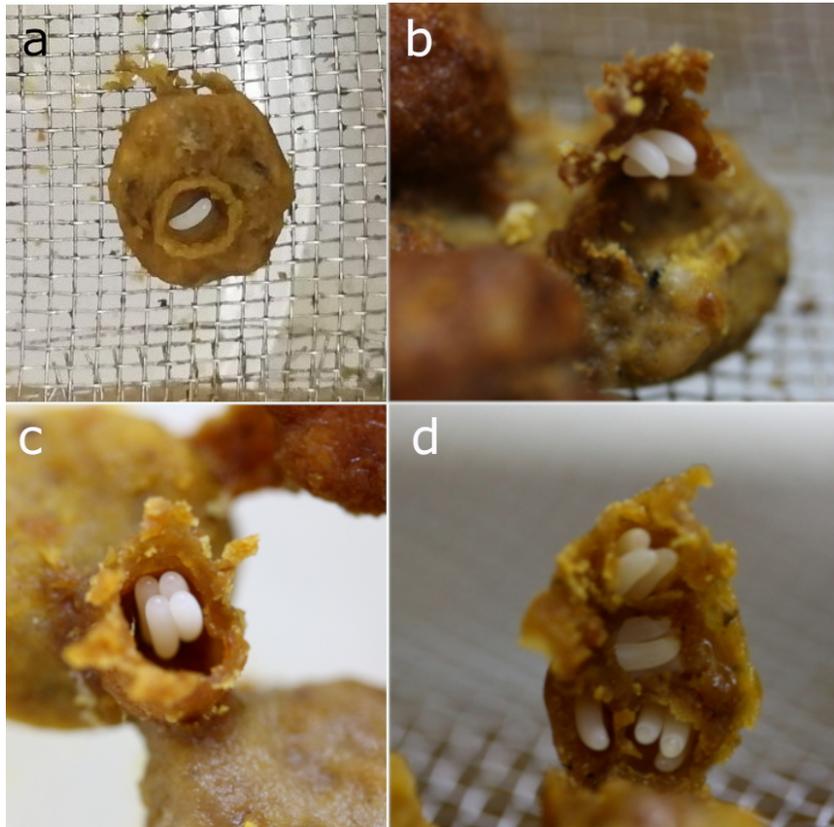
huevos dentro de cada celda, considerando el material de construcción utilizado en las Jaulas nido de inicio, como se muestra en la Tabla 15.

**Tabla 15: Orientación de los huevos en las celdas analizadas** (n Jaula nido de inicio A = 77 y n Jaula nido de inicio B = 62).

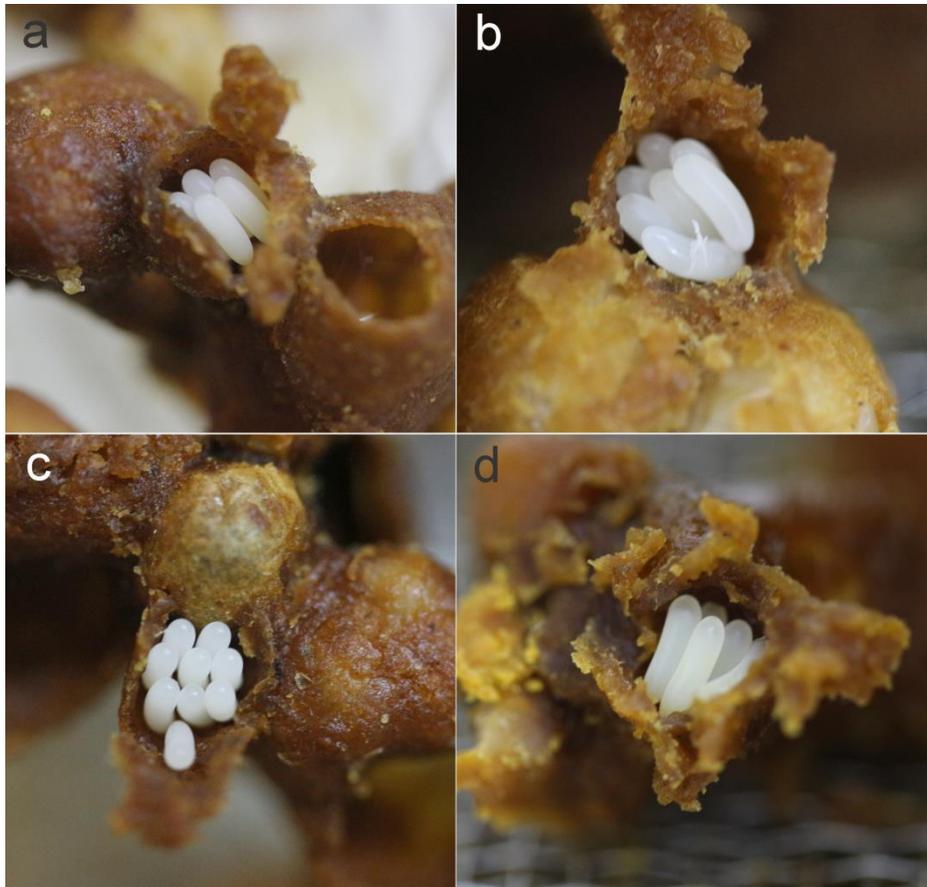
	Orientación	
	Horizontal	Vertical
<b>Jaula de inicio A (plástico)</b>	39	38
<b>Jaula de inicio B (madera)</b>	24	38

Se observó que la mayoría de las celdas aquí estudiadas presentaban una disposición que maximizaba el contacto de los huevos con la superficie sobre la cual eran depositados, revelando un patrón general:

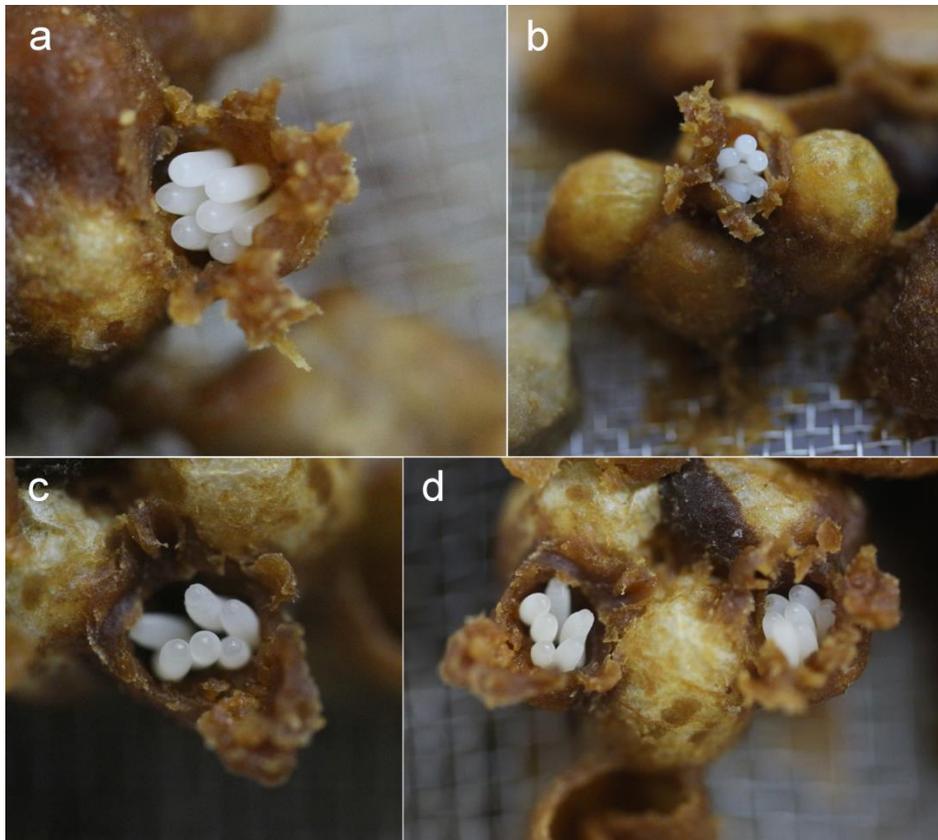
- ⊖ Sobre pellet de polen (Fig. 40): la mayoría fueron puestos horizontalmente (Fig. 40 a y b), con casos excepcionales en que los huevos presentaron orientación vertical, como por ejemplo, celda huevo inicial entre dos pellets de polen (Fig. 40 c), y una celda huevo inicial compuesta por cuatro subceldas donde 1 y 3 huevos fueron dispuestos verticalmente (Fig. 40 d). Es decir que, la superficie longitudinal de los huevos estaba completamente apoyada sobre la superficie del pellet de polen.
- ⊖ Sobre celdas de larvas (Fig. 41): en este caso, los huevos dispuestos horizontalmente correspondían a celdas construidas en la superficie de las celdas larvales (Fig. 41 a y b), maximizando el contacto entre las superficies. De manera similar, los huevos posicionados verticalmente, se encontraron en las paredes laterales de las celdas larvales (Fig. 41 c y d).
- ⊖ Sobre celdas pre-pupales y pupales (Fig. 42): al igual que en las celdas larvales, las celdas con huevos dispuestos horizontalmente estaban en la superficie de las pre-pupas y pupas (Fig. 42 a y b). En los casos de disposición vertical, se encontraron en las paredes laterales de las pupas (Fig. 42 c y d).



**Figura 40:** Orientación de los huevos en celdas huevo inicial (Ci) construidas sobre pellets de polen. (a y b) huevos dispuestos de manera horizontal con respecto al eje de la jaula nido. (c) huevos verticales en Ci puesta entre dos pellets de polen y (d) huevos en Ci con subdivisiones donde se observa dos de ellas con 1 y 3 dispuestos de manera vertical con respecto al eje de la jaula nido y los demás orientados horizontalmente.



**Figura 41:** Orientación de los huevos en celdas huevo construidas en celdas larvales. (a y b) celdas huevo sobre celda larval cuyos huevos fueron dispuestos con orientación horizontal. (c y d) huevos dispuestos verticalmente en celdas huevo construidas sobre la pared lateral de celdas larvales, orientados de forma vertical.



**Figura 42:** Orientación de huevos en celdas huevo construidas sobre celdas pre-pupales y pupales. (a y b) celdas de huevo construidas sobre la superficie de celdas pre-pupal y pupal, con huevos dispuestos horizontalmente. (c y d) celdas de huevo con huevos dispuestos verticalmente entre celdas con pupas.

## Discusión

En el presente estudio, se observó que más del 50% del total de las reinas de *B. pauloensis* confinadas lograron producir descendencia, lo cual es un hallazgo significativo, especialmente considerando que esta especie pertenece a un grupo de abejorros que se consideran difíciles de criar debido a su modo de alimentación larval (Plath, 1923; Griffin et al., 1991; Ptáček y Drobna, 2006; Velthuis y van Doorn, 2006). Además, comparativamente, el éxito de establecimiento reportado para especies con similar modo de alimentación larval en Norteamérica varía entre el 30 y 50% (Evans et al., 2007), con valores específicos para Colombia y Uruguay de un 35% y un 30.3% respectivamente (Rojas Prieto & Cure, 2012; Salvarrey et al., 2013).

En cuanto a la duración del desarrollo pre-imaginal, los resultados obtenidos en este estudio presentaron valores significativamente menores en comparación con investigaciones previas realizadas en distintas regiones del Neotrópico, abordando condiciones similares de cría en confinamiento (Rojas, 2006; Almanza Fandiño, 2007; Pacateque et al., 2012; Salvarrey et al., 2013; Riaño et al., 2014). Un resumen de esta información bibliográfica es presentado en Tabla 16.

El uso de jarabe enriquecido en la cría en confinamiento ha demostrado ser ventajoso al inducir a diferencias significativas en el tiempo de desarrollo y el éxito reproductivo de las colonias. Este jarabe, al contener proteínas y aminoácidos esenciales, compensa la deficiencia de estos nutrientes en el polen comúnmente utilizado. Este resultado resalta la importancia del jarabe enriquecido, el cual proporciona proteínas y aminoácidos esenciales, subsanando la carencia de estos elementos en el polen utilizado, influyendo positivamente en el crecimiento de las larvas y minimizando el estrés proteico, que a menudo se traduce en una alta y temprana mortalidad de las colonias (Génissel et al., 2002; Stabler et al., 2015; Watrous et al., 2019). La composición del jarabe enriquecido, con sacarosa, glucosa, fructosa (en proporción 2:1:1) imita la composición general del néctar (Baker y Baker, 1979); a su vez, la presencia de estos monosacáridos evita la cristalización del néctar sustituto. Los aceites esenciales

agregados cumplen la función de estimular la alimentación de los abejorros (Strange, 2017 com. per.). Por último, el ácido ascórbico y el sorbato de potasio, son utilizados ampliamente como conservantes de sustancias alimenticias, por lo que contribuyen a la prevención de su descomposición y minimizan la necesidad de manipulación frecuente del operador para asistir a la colonia. Por ello, se considera que en confinamiento, el uso de un jarabe enriquecido puede ser una alternativa menos laboriosa y más eficiente que la alimentación “vía bolsillo” usada comúnmente, especialmente en situaciones que requieran el desarrollo masivo de colmenas ya sea con fines comerciales o para re-población.

**Tabla 16: Información compendiada desde bibliografía sobre la duración de los diferentes estados de desarrollo de *B. pauloensis* en distintos países del neotrópico bajo diferentes condiciones de cría.**

Referencia	Huevo	Larva	Pupa	Pre- imaginal	Condición de Cría
<b>Sakagami et al. 1967, Brasil</b>	6	12 - 13	8 - 12	28	Semiconfinamiento
<b>Zucchi, 1973. Brasil(*)</b>				29,6	Silvestre
<b>Rojas, 2006. Colombia (**)</b>	6,8 ± 1,8	12,9 ± 3,3	12,9 ± 3,7	32,6	Confinamiento
<b>González et al, 2004. Altoandino de Colombia y Ecuador</b>	6,8 ± 0,4	10,9 ± 0,3	12,8 ± 0,3	29,6 ± 0,3	Silvestre - 2000 m s.n.m.
	6,8 ± 1,8	12,9 ± 3,3	12,9 ± 3,7	32,6	Confinamiento
<b>Almanza</b>	7,5 ± 2,3	14,1 ± 4,3	14,2 ± 5,2	35,80	Confinamiento
<b>Fandiño, 2007.</b>	11 ± 2,9	15 ± 2,9	12,5 ± 3,4	38,5	Confinamiento
	7,4 ± 2,6	14,7 ± 3,6	11,5 ± 3,2	33,6	Confinamiento

<b>Colombia</b>					h/15 ob → Semiconfinamiento
<b>Cruz et al., 2008. Colombia</b>	4	12	8	24	Alimentación vía bolsillo
<b>Torres y Gomez, 2008. Colombia (***)</b>	7,7	16,1	10,2	34,1	Confinamiento
	7,6 ± 1,8	9,2 ± 2,3	9,2 ± 1,1	26,4 ± 3,3	Alimentación vía bolsillo
<b>Pacateque et al., 2012. Colombia</b>	9,9 ± 1,8	10,2 ± 0,6	11,4 ± 0,8	31,5 ± 1,2	Alimentación vía bolsillo
	9,1 ± 1,3	10,7 ± 1,3	10,5 ± 0,8	31 ± 2,3	Alimentación vía bolsillo
<b>Rojas Prieto y Cure, 2012. Colombia</b>	-	-	-	33,66 ± 6,9	Confinamiento
<b>Salvarrey, 2013. Uruguay</b>	-	-	-	36,8	Confinamiento
<b>Riaño et al., 2014. Colombia</b>	7,8 ± 1,7	14,5 ± 5	10,8 ± 6,1	32,8 ± 7,9	Confinamiento
	6 ± 2,6	13,9 ± 4,4	8,7 ± 3,6	29,5 ± 5,1	Confinamiento ---> forrajeo
	6,82 ± 0,18	18,85 ± 0,3	11,52 ± 0,12	38,38 ± 0,47	Confinamiento, jarabe común + jaula nido de inicio A
<b>Presente estudio</b>	7,07 ± 0,25	15,75 ± 0,37		34,5 ± 0,61	Confinamiento, jarabe común + jaula nido de inicio B
	5,18 ±	12,95 ±	12,23 ±	29,89 ± 0,27	Confinamiento, jarabe

0,10	0,16	0,15		enriquecido + jaula nido de inicio A
6,36 ± 0,14	13,1 ± 0,2	11,51 ± 0,19	30,86 ± 0,34	Confinamiento, jarabe enriquecido + jaula nido de inicio B

En cuanto al tipo de jaula nido utilizado, cuando se incorporó el jarabe enriquecido, se observó que el éxito reproductivo (obtención de colonias de hasta 10 obreras) fue un 12,25% mayor en las Jaulas nido de inicio A, de plástico, y con una menor duración del estado de huevo. En las otras fases de desarrollo las diferencias no fueron muy marcadas respecto a los individuos mantenidos en las Jaulas nido de inicio B, de madera, pero, a pesar de ello, se registró una disminución en el tiempo que tardan los individuos hasta alcanzar el estado adulto. Este resultado concuerda plenamente con los resultados obtenidos por Imran et al. (2017) en su estudio sobre la especie *Bombus terrestris*, donde observaron un plazo menor hasta la emergencia de la primera obrera en jaulas nido de inicio de plástico. Los autores sugieren que esta diferencia podría estar asociada a la capacidad del cartón para absorber humedad lo que podría favorecer la multiplicación de hongos parásitos como *Nosema apis* y *Nosema bombis* (Fries et al., 2001) que atacan el sistema excretor de los abejorros y los debilitan. Se deja constancia que en este trabajo de tesis no se observó infección de los individuos confinados por estos parásitos.

En aquellas colonias mantenidas con jarabe común también se observó esta diferencia en la duración del desarrollo del estado de huevo, siendo menor en plástico, coincidiendo nuevamente con Imran et al. (2017). El éxito reproductivo también fue mayor en las Jaulas nido de inicio A, de plástico, aunque el resultado global del tiempo de desarrollo hasta la emergencia del adulto fue menor en Jaulas nido de inicio B, de madera, influenciado principalmente por la duración del estado larval. Igualmente, estas diferencias registradas con respecto a las colonias provistas de jarabe enriquecido, podrían deberse a una menor cantidad de proteínas que podrían afectar el desarrollo.

Desde una perspectiva práctica, el material plástico demostró ser más manejable en términos de

limpieza y reutilización en ciclos anuales continuos (Yoon et al., 2004) evitando ser un posible reservorio de huevos de polillas cuya generación de adultos se vuelve un problema difícil de conciliar tanto en el desarrollo de las colonias como en el éxito reproductivo (Imran et al., 2017).

En cuanto a la secuencia del desarrollo de la colonia, más precisamente la disposición de las celdas a medida que el nido crece, los resultados obtenidos coinciden con los observados por Sakagami et al. (1967) en Brasil y por González et al. (2004) en Ecuador y Colombia para la misma especie.

Respecto a la forma de las celdas de huevo, las observaciones aquí recabadas coinciden con lo expuesto por Garófalo (1979). En cuanto al número de huevos depositados en dichas celdas, Garófalo observó un máximo de 8, en coincidencia con la presente investigación, con algunos casos aislados de un máximo de 10 y 11, como así también, habiendo encontrado casos aislados de celdas huevo iniciales (CI) divididas internamente en subceldas. Asimismo, se coincide en el momento de construcción del vaso de alimentación que en la mayoría de los casos ocurrió luego de la construcción de la CI.

La disposición de los huevos en las celdas, evidenciada como mayormente horizontal, podría estar vinculada al calor emitido por las estructuras subyacentes. Los resultados de este trabajo contrastan con las observaciones de Garófalo (1979), quien reportó una orientación vertical. Se infiere que la posición de los huevos se elige estratégicamente para maximizar la superficie de contacto con el sustrato, posiblemente para aprovechar las condiciones térmicas proporcionadas por las estructuras sobre las que se depositan. En la mayoría de los casos estudiados, los huevos depositados en las celdas construidas sobre el pellet polen, exhibieron una orientación horizontal, sugiriendo una posible retención de calor en este sustrato. Por otro lado, los huevos depositados sobre la superficie de celdas larvales en estado avanzado o de pupa inicial mostraron tanto orientaciones horizontales como verticales, indicando una posible adaptación a diferentes niveles de calor metabólico emanando de estas estructuras en diferentes etapas de desarrollo. Este patrón sugiere una relación compleja entre la posición de los huevos y el entorno térmico.

Resulta importante destacar, que la alimentación por bolsillo no fue observada en forma directa. A pesar que se produjo la construcción de los mismos, las larvas fueron alimentadas de manera individual mediante la apertura de las celdas tal como fue reportado para otras especies constructoras de bolsillo como *B. hortorum*, *B. pascuorum* y *B. ruderarius* (Ptáček, 2001). Las condiciones ambientales de cría bajo las cuales se mantuvieron las colmenas en confinamiento en este trabajo, fueron las mismas que las utilizadas por múltiples investigadores para la cría de esta especie neotropical; en los trabajos que reportan este aspecto de la alimentación, informan que proveyeron el polen introduciéndolo dentro de los bolsillos de manera mecánica y premeditada (Cruz et al. 2008; Pacateque et al., 2012; Salvarrey et al 2013) lo que, seguramente, implicó un mayor esfuerzo. Claramente el resultado obtenido en este trabajo refuerza la idea planteada por Ptáček (2001) quien sostiene que, a partir de sus observaciones expuestas anteriormente, no sería del todo corrector dividir a los abejorros en dos grupos según el uso del polen. Por otro lado, este resultado también sugiere revisar la idea de que los constructores de bolsillo son menos adecuados para la cría en confinamiento según lo recabado por Velthuis y van Doorn en su trabajo de revisión de “*un siglo de progreso en la cría de abejorros (...)*” (2006).

Los resultados presentan una serie de hallazgos significativos, desde el éxito en la fundación de colonias hasta la influencia del tipo de jaula ofrecido en el tiempo de desarrollo preimaginal. Estos datos proporcionan una comprensión detallada del comportamiento, desarrollo y arquitectura de los nidos de *Bombus pauloensis* en condiciones experimentales. La variabilidad en el éxito y el comportamiento observado destaca la complejidad de la biología de estos polinizadores y la importancia de considerar cuidadosamente las condiciones de cría en investigaciones y estrategias de conservación.

## Conclusiones

La especie *B. pauloensis*, a pesar de ser considerada un abejorro difícil de ser mantenido en condiciones de confinamiento total, demostró un aceptable desarrollo de sus colonias bajo las condiciones

experimentales proporcionadas. Por otro lado, para la especie *B. morio* se observó el desarrollo de descendencia hasta el estado de pupa en unos pocos casos pero, a pesar de ello, se concluye que podría ser posible el establecimiento de sus colonias en confinamiento si se proporcionaran condiciones adecuadas.

La incorporación de jarabe enriquecido con proteínas tuvo un impacto significativo en el rendimiento de *B. pauloensis*, mejorando su éxito reproductivo y desarrollo en un entorno controlado. Estos hallazgos sugieren que el manejo nutricional y el ambiente de cría son factores clave para optimizar el éxito en la cría de abejorros, lo que podría facilitar la conservación y el manejo de estas especies.

Desarrollo de colmenas en semiconfinamiento e influencia de variables externas en los períodos de aprovisionamiento



## Introducción

La mayoría de las especies criadas artificialmente en la actualidad, tanto para investigación como para su comercialización, son de origen euroasiático y norteamericano clasificados como “almacenadores de polen” por el modo de alimentación larval (Velthuis y van Doorn, 2006). Dada la amenaza potencial que representa la introducción de especies exóticas (Morales, 2013; Schmid Hempel et. al, 2014; Goulson et al., 2015), la estrategia más adecuada para mejorar la productividad de cultivos auxiliados por polinizadores consiste en lograr la producción en condiciones controladas y semicontroladas de obreras y sexuales de especies nativas de *Bombus*.

Las especies sudamericanas, incluidas *B. morio*, *B. pauloensis* y *B. bellicosus*, pertenecen al grupo “hacedores de bolsillo”. Las experiencias de cría, de estas especies, en Brasil (Garófalo, 1978; 1979; 1980), Colombia (Aldana et al., 2007; Cruz et al., 2008), y en Uruguay (Salvarrey et al., 2013) se basaron en el uso de colonias extraídas de su hábitat natural o logradas a partir de reinas fertilizadas, colocadas en condiciones controladas, en colmenas de madera. En estos estudios se proveen detalles fragmentarios sobre los tiempos de desarrollo de la cría, disposición de la misma, construcción de una envuelta de cera perimetral (involucro) y desarrollo de la colonia.

De manera general, a la hora de la cría en confinamiento y semiconfinamiento, se debe tener en cuenta que diversos aspectos influyen en el exitoso desarrollo de las colonias y la producción de sexuales (reinas vírgenes y machos), tales como el material utilizado en la construcción de las colmenas (Imran et al., 2017), la temperatura y humedad relativa (Yoon et al., 2002; Gurel & Gosterit, 2008), la fuente de alimentación (Crone & Williams, 2016; Ryder et al., 2021) y la frecuencia (Ribeiro et al., 1996), así como la alimentación independiente (Almanza Fandiño, 2007; Ptacek et al., 2015; Crone & Williams, 2016; Riaño-Jimenez et al., 2020).

Este trabajo busca dilucidar el efecto del tipo de jaula nido utilizado en la construcción de la colmena artificial en el desarrollo de obreras y sexuales, tanto en condiciones de confinamiento como en

situación de semiconfinamiento (que iniciaron sus colonias en confinamiento total pero posteriormente fueron mantenidas en el exterior). Este enfoque permite examinar las respuestas de las colonias en condiciones controladas y en un entorno más natural permitiendo así una comprensión más completa de la dinámica de su desarrollo.

Adicionalmente este trabajo pretende esclarecer aspectos sobre las actividades de forrajeo de especies neotropicales de abejorros explorando su relación con parámetros ambientales tales como la temperatura y humedad relativa lo que proporcionará información crucial para una comprensión más profunda de este comportamiento en condiciones específicas.

Los resultados expuestos en este capítulo proporcionan información valiosa sobre el manejo efectivo de colmenas en diferentes contextos, contribuyendo al conocimiento de la biología y ecología de los abejorros del neotrópico.

Teniendo en cuenta lo planteado anteriormente en este capítulo se proponen **dos objetivos específicos** y **dos hipótesis** correspondientes:

- 1- Conocer en condiciones de confinamiento y exterior (semiconfinamiento), el efecto de dos tipos de nidos artificiales, en la dinámica y desarrollo de las colonias de cada especie utilizada.

Hipótesis: El nido artificial proporcionado (de diferente forma, tamaño y material de construcción) es determinante no sólo en el establecimiento exitoso de la reina sino también en el desempeño de la colonia.

- 2- Investigar la influencia de la temperatura y la humedad relativa del ambiente en la actividad de pecoreo de *B. pauloensis*.

Hipótesis: El ciclo estacional de actividades de la especie depende de factores ambientales tales como Temperatura y Humedad Relativa del ambiente.

# Materiales y métodos

## *Sitio de estudio*

La Estación Experimental Agropecuaria INTA Famaillá (27°01'S, 65°22'O, 363 m s.n.m.; Fig. 43) se encuentra ubicada en la región agroecológica de la llanura deprimida no salina, con una temperatura media de 25°C y 12,2°C en el mes más cálido y más frío, respectivamente. La precipitación media anual de 700 a 1000 mm concentrados de noviembre a abril (Zuccardi & Fadda, 1985). Cuenta con una superficie total de 358 ha de las cuales 171 ha son de caña de azúcar, 38 ha de soja, 12 ha de cítricos, un vivero forestal de 6 ha (cuya producción arbórea cuenta con más de 45 especies), 1,5 ha de eucaliptus, huerta educativa de 4 ha, y 8000 m lineales de álamos como cortinas rompe vientos.

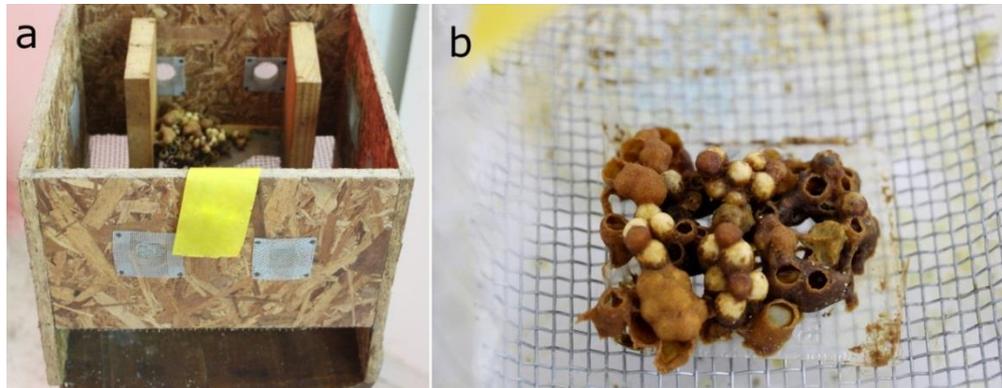


**Figura 43:** Mapa de la EEA INTA Famaillá, vista satelital de Febrero del 2020. Se resaltan los sectores correspondientes a los invernaderos, edificios agrupando a los administrativos y laboratorios, los diferentes cultivos, los puntos donde se encuentra la estación meteorológica y el sector que se eligió para colocar las colmenas (roble).

### ***Selección de colonias *B. pauloensis****

Se emplearon colonias obtenidas en confinamiento a partir de reinas capturadas en la naturaleza. Una

vez que las colmenas produjeron más de 10 obreras, se trasladaron los nidos jaula de inicio a los nidos jaula final, debido a que el desarrollo era tal que no permitía separar el nido inicial sin romperlo. En el caso de las jaulas de inicio de madera se retiraron las paredes de vidrio y la tapa. (tapa y paredes laterales) (Fig. 44 a), mientras que en las de plástico se recortó el excedente (Fig. 44 b).



**Figura 44:** Vistas de las jaulas de inicio introducidas en las jaulas nido final. (a) conjunto en jaula nido final B, de madera. (b) conjunto en jaula nido final A, de plástico.

Después de adecuar las colonias a las nuevas dimensiones de las Jaulas nido final, se realizó una selección basada en el número de obreras, de aquellas que continuarían su desarrollo en situación de exterior, es decir en condiciones seminaturales, expuestas a un ambiente no controlado pero protegidas en cajas contenedoras de poliestireno expandido. Para los ensayos solo se utilizaron colmenas de la especie *B. pauloensis* dado que fue la única especie con éxito reproductivo (producción de colonias con hasta 10 obreras) en confinamiento (ver Cap. III).

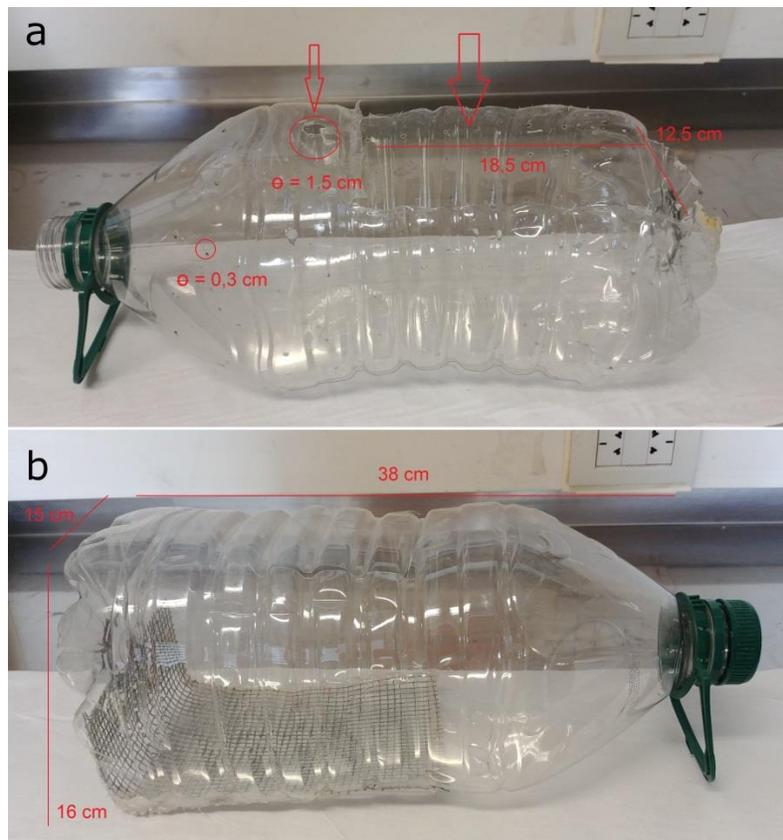
## Nidos artificiales

### Jaulas nido final

Al igual que para las jaulas de inicio, para la construcción de las jaulas finales se seleccionaron dos materiales: plástico y madera.

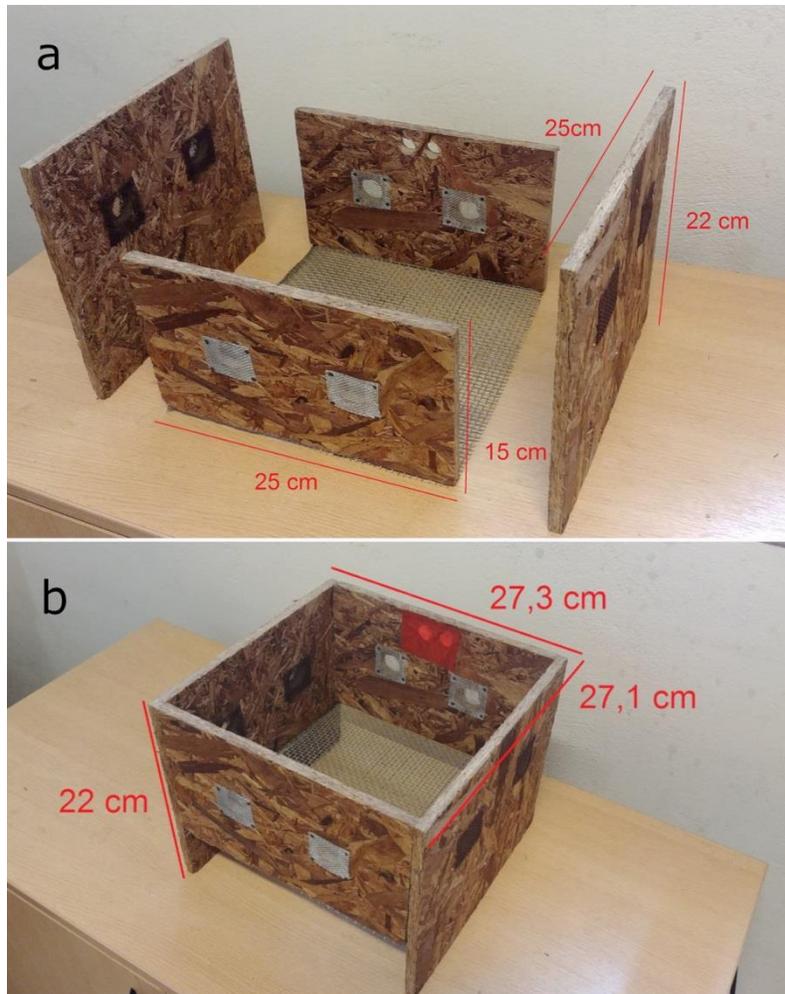
- **Modelo de Plástico (Jaula nido final A):** Se adaptaron bidones comerciales de agua de 6,5 litros ( $6500 \text{ cm}^3$ ) de capacidad, en base a las dimensiones sugeridas por Evans et al. (2007). Las

medidas de los bidones fueron: alto (del pico al fondo): 38 cm, ancho: 15 cm, profundidad del cuerpo: 16 cm, angostándose a partir de los 25,5 cm de alto hasta llegar a 5 cm correspondiente al diámetro de la boca. Los mismos se perforaron en toda su sección con alambre caliente con lo que se obtuvieron múltiples aberturas uniformes de 0,3 mm de diámetro (aproximado) para la ventilación (Fig. 45 a). En la parte superior se cortó una sección rectangular de manera que permitiera apertura y cierre sin desprenderse totalmente del envase. La cara opuesta a la parte superior, fue removida y reemplazada por una tela de alambre tejido de aluminio para ventilación y eliminación de detritos, constituyendo la base de la jaula (Fig. 45 b). Al no contar con patas sobre las cuales mantenerse, para que la superficie de apoyo no sea la misma base de la malla de alambre y no se acumulen los detritos en la superficie de apoyo se utilizó como tal el contenedor de jarabe tapado colocado en la primera mitad del envase.



**Figura 45.** Armado de Jaula nido final A, de plástico, a partir de bidón de agua comercial: (a) señalización de recortes para la colocación de la mecha de jarabe, “tapa” de apertura y acceso y perforaciones de ventilación. (b) Jaula nido final A, de plástico, lista con malla de alambre en la base.

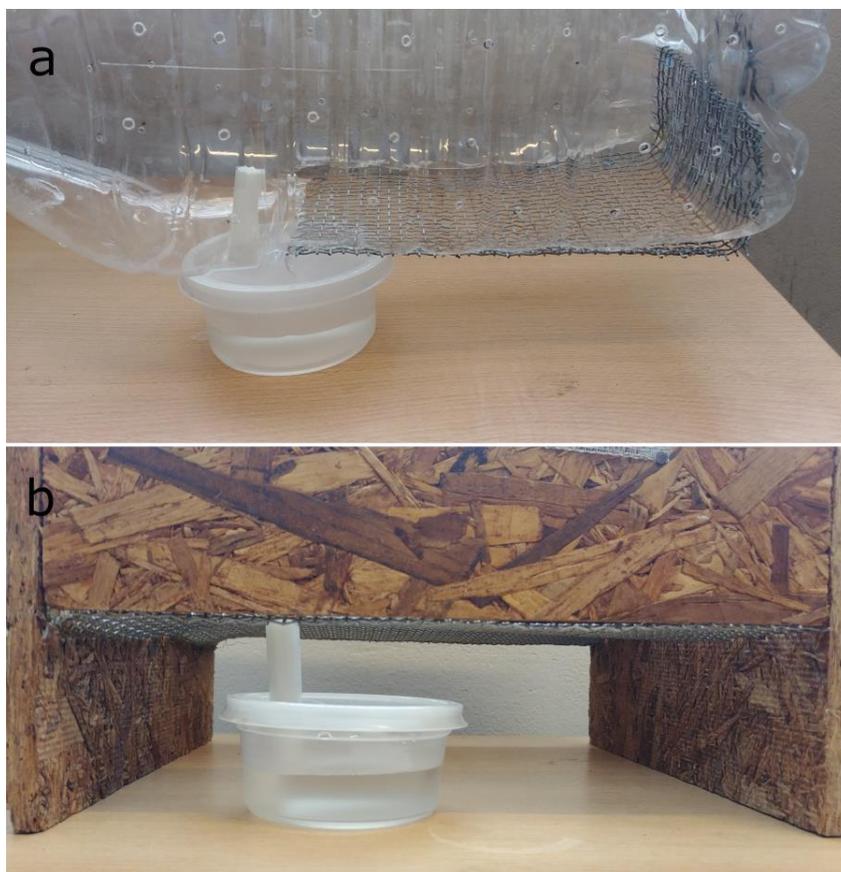
- **Modelo de madera (Jaula nido final B):** Se construyó con placas de OSB (Oriented Strand Board o tablero de virutas orientadas), formando un cubo (dos lados de 25 cm de ancho por 22 cm de alto y dos de 25 cm de ancho por 15 cm de alto), y un piso de malla metálica (para la correcta eliminación de detritos y ventilación). Se complementó la ventilación con perforaciones de 2,5 cm de diámetro en la parte media de cada lateral protegidas con malla metálica (Fig. 46 a). En la parte superior se colocó una tapa de vidrio para monitorear el desarrollo de la colmena (Fig. 46 b). Las dimensiones internas resultantes de este tipo de jaula nido fueron de 25 x 25 x 15 cm con lo que se obtuvo un volumen interno aproximado de 9000 cm<sup>3</sup>.



**Figura 46:** Armado de la jaula nido final B, de madera: (a) disposición de las cuatro paredes de OSB en forma de cubo con la malla metálica adherida a la base de las paredes de 15 cm de alto. (b) modelo final con medidas externas.

### ***Provisión de polen y jarabe a las Jaulas nido final***

En ambos casos el polen fresco fue introducido por la parte superior de la Jaula nido final y el jarabe dispuesto en dispensadores en la parte inferior de la Jaula nido final (Fig. 47 a y b), como los descritos en página 24.



**Fig. 47:** Expendio del jarabe por la base de las jaulas. (a) Jaula nido final A, de plástico. (b) Jaula nido final B, de madera.

### ***Adecuación de las colonias para mantenimiento en exterior (semiconfinamiento)***

Se seleccionaron seis colonias en total, tres mantenidas en Jaulas nido final A, de plástico, y tres en Jaulas nido final B, de madera. Se clasificaron como “pequeñas” aquellas que presentaban al menos 20 obreras y “grandes” las que presentaban 30 o más. Esta clasificación sólo se consideró para el análisis de adaptación y desarrollo de las colonias en exterior.

Inicialmente, se procedió al montaje de la estructura donde se ubicarían las colmenas, bajo la copa de un roble. Dicho árbol estaba situado entre un galpón de materiales apícolas al Norte, un depósito al Sur, un invernadero floral al Oeste y un camino seguido de un canal de agua y, posteriormente, un cultivo de limón al Este. Los nidos se ubicaron en semicírculo con las entradas orientadas hacia el Este y levemente hacia el Noreste y Sureste para no interferir con el trabajo, el tránsito y la seguridad de los usuarios del

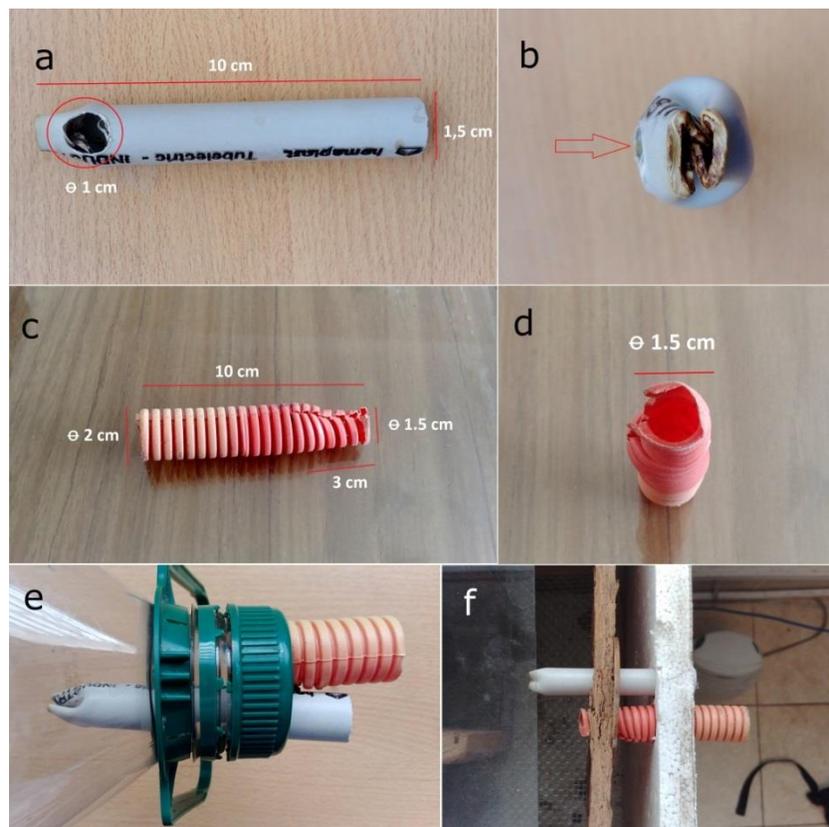
invernadero. Se enterraron verticalmente ocho pilares (tubos huecos de 10 cm de diámetro dispuestos en semicírculo y de 80 cm de altura, con una separación de un metro entre ellos y se rellenaron con una mezcla de piedras y cemento (Fig. 48 a). Sobre cada pilar se colocó una base de madera, fijada con alambre al mismo, sirviendo como estante para apoyar las colmenas individualmente (Fig. 48 b).



**Figura 48:** Exterior; armado de las estructuras. (a) disposición de pilares semienterrados en el suelo. (b) colocación de base de madera para sostener las colmenas. (c) modelo final, muestra de una colmena colocada en soporte.

Finalmente las colmenas se colocaron en cajas de poliestireno expandido con tapa (medidas: 25 x 40.5 x

34 cm) proporcionando protección contra las lluvias, oscuridad y aislamiento térmico tratando así de reproducir, y tal vez mejorar, las condiciones ambientales de las colonias naturales semienterradas en el suelo (Fig. 48 c). Estas cajas contenedoras tenían dos entradas (Fig. 49 e y f), una común de forma circular puesta en contacto con una entrada similar en la jaula mediante un tubo corrugado de 2 cm de diámetro (Fig. 49 c y d) y una entrada selectiva que consistió en un tubo plástico de 1,5 cm de diámetro cerrado en el final (es decir en el interior de la colmena), con hueco en la pared lateral apuntando hacia abajo (Fig. 49 a y b). Esto permitía cerrar la colmena, dejando que las obreras ingresen pero que no puedan salir, facilitando así la movilización de la colmena hacia el interior de la cámara de cría climatizada, para inspeccionar su forma interna, estimar la cantidad de adultos, pupas, presencia de machos y reinas, y acumulación de polen y néctar para su estudio.



**Figura 49:** Sistema de entrada. (a y b) tubo de entrada selectiva. (b y c) entrada de caño corrugado. (e) sistema de entradas armado en Jaula nido final A, de plástico y (f) en Jaula nido final B, de madera.

Las Jaulas nido final B, de madera, fueron colocadas al exterior el 18 de diciembre de 2019. Tras un período de dos días, durante el cual se monitoreo la adaptación de las obreras, se procedió a trasladar las Jaulas nido final A, de plástico (Fig. 50). Al momento de ser expuestas al exterior, se proveyó de polen y néctar a cada una de las colmenas como suplemento por única vez para que puedan alimentarse hasta encontrar las fuentes naturales de polen y néctar.



**Figura 50:** Colmenas en exterior dispuestas en ambiente natural no controlado pero protegidas por la estructura de poliestireno expandido.

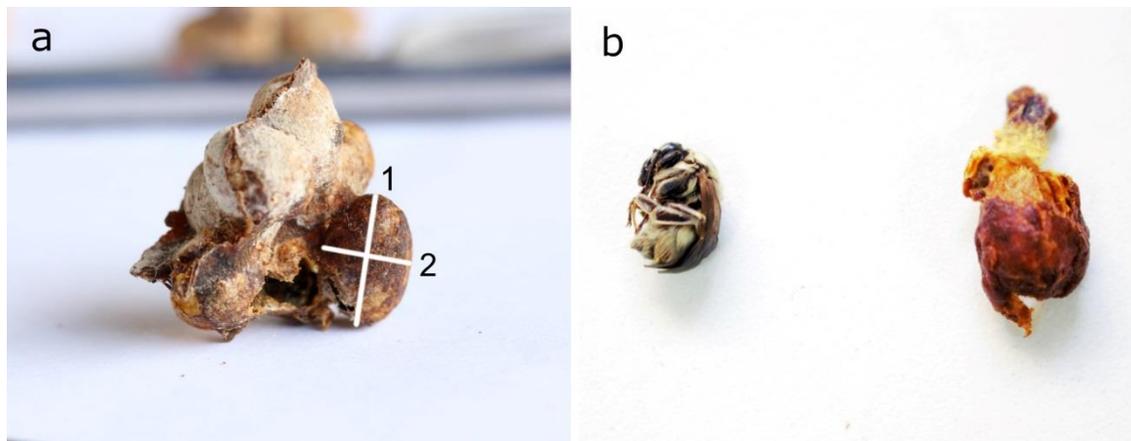
### ***Toma de datos de desarrollo de colmenas expuestas en el exterior (semiconfinamiento)***

Una vez colocadas en el exterior, luego de doce y diez días de adaptación, Jaulas nido final B y A respectivamente, se realizaron monitoreos de actividad registrando: a) entrada y salida de las obreras, b) reservas de polen y néctar, c) ventilación y crecimiento de la colonia. Estas tareas se realizaron durante la última semana de diciembre de 2019, y los meses de enero, febrero y mitad de marzo de 2020.

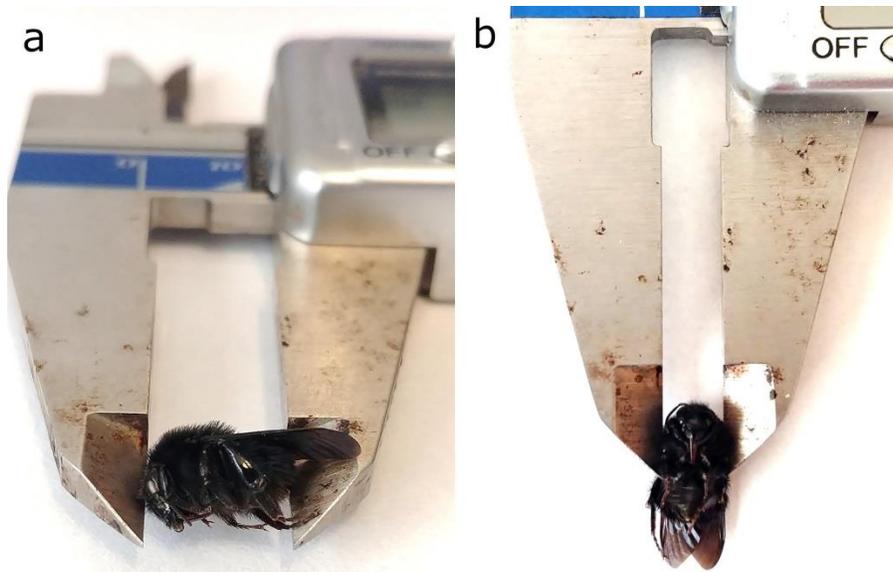
Los monitoreos de aprovisionamiento de recursos se extendieron hasta el 16 de marzo (comienzo de la pandemia). Posteriormente, las colmenas se abrieron y se llevó a cabo un análisis morfométrico de las celdas y la estructura del nido. Se tomaron medidas externas del diámetro y altura de las celdas de

pupas tanto abiertas y vacías como cerradas con contenido (Fig.51 a). Además, se retiró el contenido de las celdas cerradas (Fig. 51 b) y, en caso de contener un adulto farado (obrero, zángano o reina), se midió el ancho del mesosoma en su punto más ancho (siguiendo a Uthoff & Ruxton, 2022) y del largo total del espécimen (Fig. 52. a y b). También se midieron los adultos que pudieron ser recolectados de cada colmena. Todas las medidas se realizaron utilizando un escalímetro digital (Schwyz CALDIG 150.001).

Se consideraron siete Jaulas nido final B, de madera, y ocho Jaulas nido final A, de plástico, como colmenas testigo, que permanecieron en confinamiento total. El desarrollo de estas colonias se siguió hasta el final del ciclo, y se compararon con datos obtenidos de las Jaulas nido final en exterior.



**Figura 51:** (a) muestra de la toma de medidas del largo (1) y diámetro (2) de las celdas con pupas de Jaulas nido final en situación de exterior. (b) muestra de adulto farado extraído manualmente de la celda y celda que lo contenía de Jaulas nido final en exterior.



**Figura 52:** Medición de obreras. (a) largo de la obrera, (b) ancho del mesosoma.

### ***Análisis de datos***

Para registrar el nivel de actividad de las obreras, se realizaron observaciones diurnas durante media hora en diferentes franjas horarias, dentro de períodos entre las 8:30 hasta las 17 hs, siendo la hora pico de búsqueda de alimento para los polinizadores de 10 a 17 (Garbuzov et al., 2017).

Estos registros se correlacionaron con los valores de temperatura y humedad relativa ambiente al momento del inicio de cada observación, obtenidos por la Estación Meteorológica Convencional - INTA EEA Famaillá, ubicada a unos 400 m aproximadamente del lugar donde se encontraban las colmenas (ver Fig. 43). El monitoreo fue realizado de manera personal tomando nota sobre cada entrada y salida que ocurría en cada una de las colmenas con el observador ubicado a una distancia estimada de tres metros.

De las seis colmenas en estudio se obtuvieron un total de 25 observaciones de media hora de duración (750 minutos; momento= T1; T2; T3...T25 y momento = n = 25, donde cada n es un T) por cada colmena. Se sumaron las entradas y salidas de obreras individualmente (actividad) y se calculó el promedio de la

actividad de todas las colmenas en cada momento de observación. La actividad promedio de forrajeo se estimó como la media de entradas y salidas de obreras entre las réplicas (Tabla 27).

Para el tratamiento de los datos, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto con distribución Gamma logarítmica, considerando la temperatura y humedad relativa para cada momento censado como factores fijos (FF). Se usó como variable respuesta la actividad promedio de forrajeo. La fecha de la toma de datos se consideró como variable aleatoria.

Se utilizó la función *anova* del paquete “*stats*” para la comparación de modelos y se chequearon los supuestos de los modelos reportados mediante el paquete “*performance*” versión 0.10.2 (Lüdecke et al., 2021).

Todos los cálculos se realizaron utilizando el software estadístico R versión 4.1.3 (RStudio Team, 2015). Se emplearon las funciones *glm*, *glmer* y *glmer.nb* del paquete “*lme4*” versión 1.1-27.1 para determinar la significancia de los modelos. La función *LSD.test* del paquete “*agricolae*” versión 1.3-5 se utilizó para la comparación de diferentes categorías correspondientes a un factor fijo. La función *ggpredict* del paquete “*ggeffects*” versión 1.1.1 (Lüdecke, 2018) y las herramientas gráficas del paquete “*ggplot2*” versión 3.3.5 se usaron para los gráficos. Para los GAM (Modelo Aditivo Generalizado), se emplearon los paquetes “*mgcv*” versión 1.8-28 y “*gamm4*” versión 0.2-5. Se utilizó la función *gam* para la estimación de los modelos y *vis.gam* para los gráficos.

## Resultados

### ***Desarrollo de colmenas expuestas al exterior (semiconfinamiento)***

Las colmenas en ambos tipos de Jaulas nido final presentaron una buena adaptación al manejo en exterior. En ambos tipos utilizados se observó que las abejas construyeron una fina capa de cera color marrón, a modo de cobertura (involucro), que cubrió total o parcialmente el nido (Fig. 53: 18L a y b y

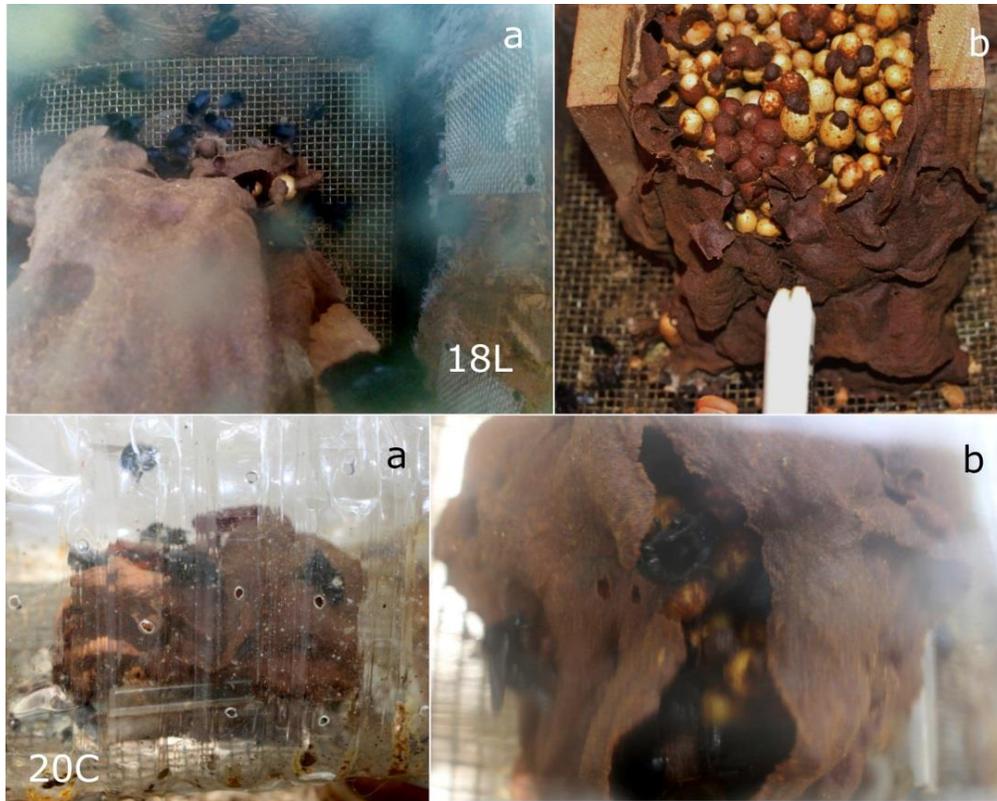
20C a y b).

Se registró una respuesta termorreguladora por parte de las obreras en ambos tipos de Jaulas nido final. Esta respuesta consistió en la agrupación de obreras en las entradas de las colonias abanicando sus alas, a modo de ventilación, cuando la temperatura exterior excedió los 31 ° C (Fig. 54 a-b).

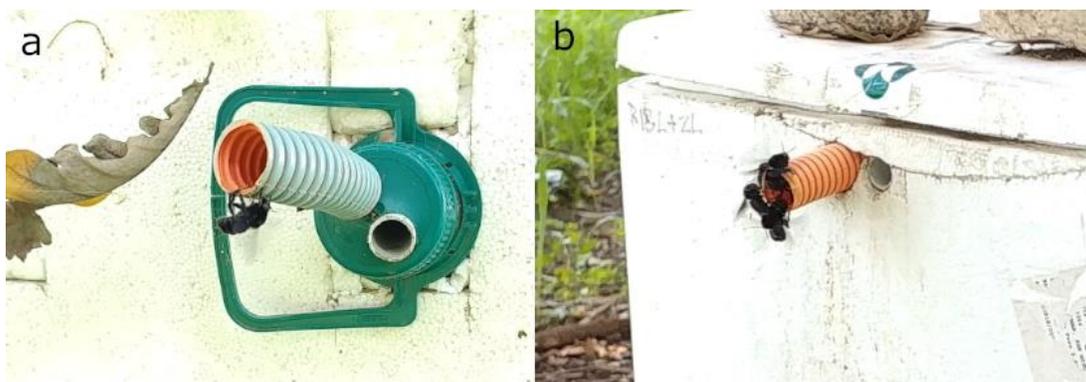
En una de las Jaulas nido final A, de plástico, se produjo la muerte de la reina a fines del mes de enero, pero la colonia continuó su desarrollo y además produjo individuos sexuados.

De las colonias resultantes dos no produjeron sexuados. Una Jaula nido final A, de plástico, clasificada como “grande” y una Jaula nido final B, de madera, “pequeña”. El resto de las colonias produjo sexuados a partir del mes de marzo, representando el 50% del total de las colmenas en semiconfinamiento. De este 50%, la mitad correspondió a Jaulas nido final B, de madera, (Fig. 55 a-f) y la otra mitad a Jaulas nido final A, de plástico, (Fig. 56 a-f) (el resto de las colonias que se incluyen en estos porcentajes se detallan en la sección Anexo).

Hacia fines de marzo se pudo observar la presencia reservas de polen y néctar (Fig. 57 a y b), de pupas reales y de zánganos (Fig. 58 a y b), así como la ocurrencia de reinas nuevas y zánganos (Fig. 59 a y b). A principios de abril las colmenas comenzaron a decaer, en cuanto a la producción de descendencia, produciéndose el final del ciclo (Tabla 17).



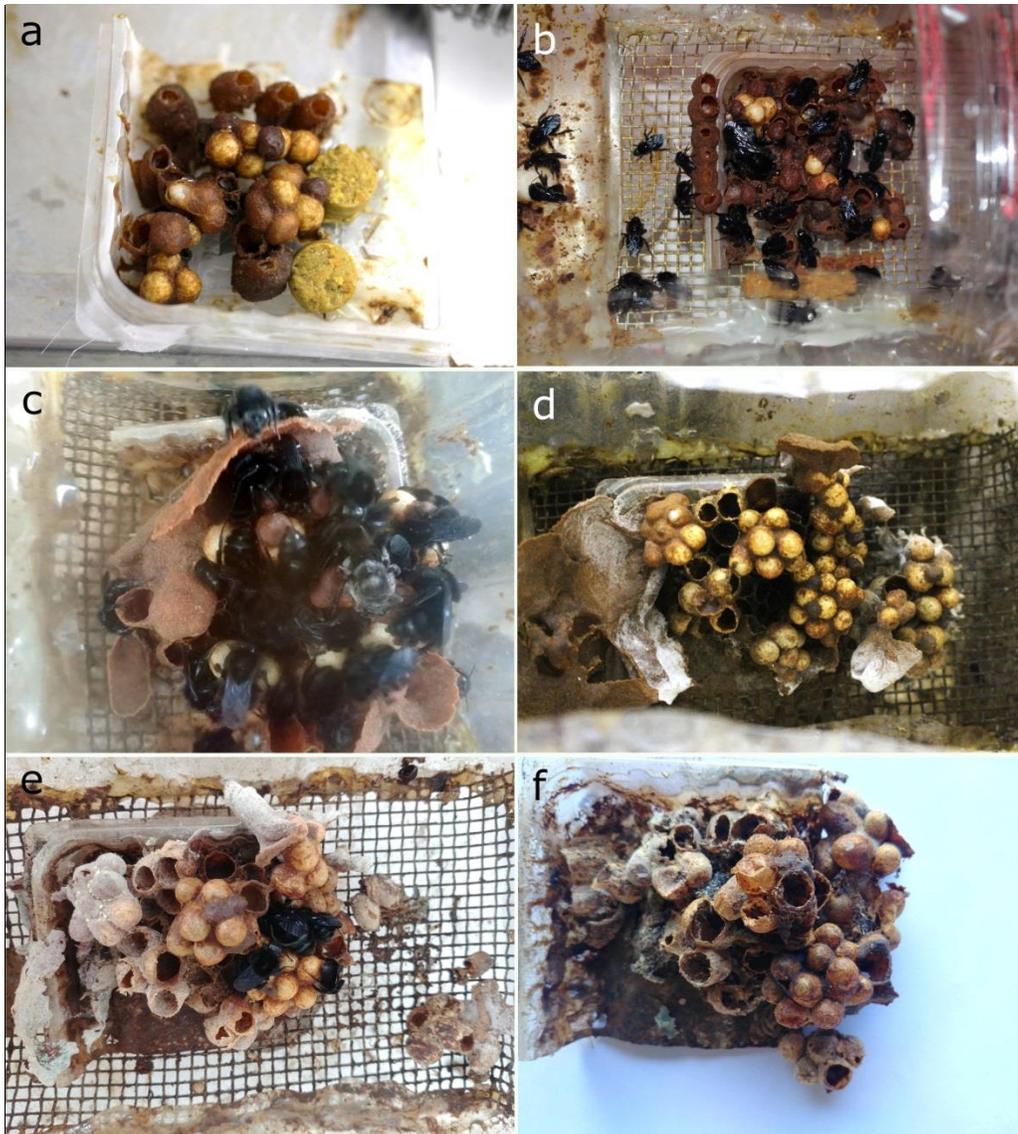
**Figura 53:** Detalle de la presencia de involucro en las colmenas en semiconfinamiento. 18L: colonia colocada en jaula nido final B, de madera. (a) vista superior del involucro cubriendo toda el área de cría. (b) vista frontal del involucro cubriendo la mitad inferior del área de cría. 20C: colonia colocada en jaula nido final A, de plástico. (a) vista lateral del involucro cubriendo toda el área de cría. (b) vista superior del involucro cubriendo toda el área de cría con una abertura superior.



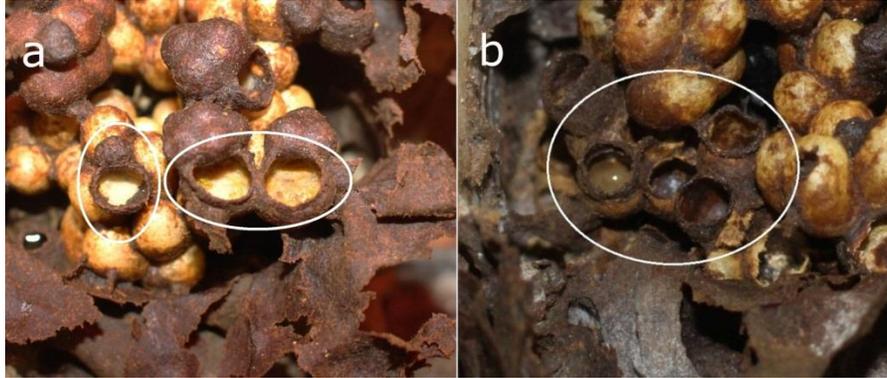
**Figura 54:** Actividad de ventilación (fanning) mediante el abanicado de las alas en la entrada de la colonia. (a) Jaula nido final A, de plástico. (b) Jaula nido final B, madera.



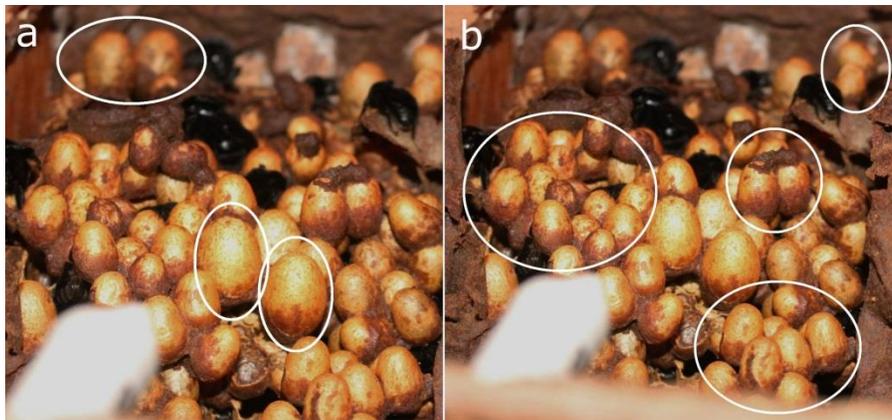
**Figura 55:** Progreso de colonia en Jaula nido final B, de madera, mantenida en condición de semiconfinamiento. (a) expansión de la colonia (18L) de la Jaula nido de inicio a la Jaula nido final, (b) estado de la colonia al momento de la salida de la Jaula nido final al exterior, (c y d) progreso de la colonia en exterior, (e) senescencia, y (f) muerte.



**Figura 56:** Progreso de colonia en Jaula nido final A, de plástico, mantenida en condición de semiconfinamiento (20C). (a) expansión de la colonia de la jaula nido de inicio a la Jaula nido final. (b) estado de la colonia al momento de la salida de la Jaula nido final al exterior. (c y d) progreso de la colonia en exterior, (e) senescencia, y (f) muerte.



**Figura 57:** Reservas de néctar y polen. (a) bolsillos con reservas de polen. (b) capullos transformados en contenedores de néctar.



**Figura 58:** Imágenes de las diferentes estructuras de la colmena. (a) pupas reales, (b) pupas de obreras/zánganos.



**Figura 59:** Producción de reinas y zánganos. (a) reinas nuevas. (b) zánganos nuevos.

**Tabla 17: Descripción del estado de las colonias al inicio de su ubicación en el exterior y al final del experimento.**

Ref: (\*) muerte de la reina el 21 de enero del 2020; (\*\*) en ambos casos la reina se encontró muerta en la fecha citada respectivamente; (\*\*\*) reina presente pero sin confirmar si es la que dio origen a la colonia; (\*\*\*\*) reservas al 19 de marzo de 2020.

COLMENA						
Inicio del Semi-confinamiento	Jaula nido final A (plástico) 20/12/19			Jaula nido final B (madera) 18/12/19		
	20C	21C	18C	23L	18L	5L
<b>Reina</b>	Si	Si	Si	Si	Si	Si
<b>Obreras</b>	28	36	20	20	47	53
<b>Pupas</b>	7	10	6	3	37	27
<b>Celdas larvales</b>	6	9	5	2	7	9
<b>Celdas huevo</b>	7	6	4	1	11	7
<b>Polen</b>	Si	Si	Si	Si	Si	Si
<b>Jarabe</b>	Si	Si	Si	Si	Si	Si
<b>Fin de la colonia</b>	30/04/20	03/03/20	01/04/20	22/01/20	14/01/20	01/04/20
<b>Reina</b>	- (*)	- (**)	- (**)	Si	Si (***)	-
<b>Obreras</b>	17	3	4	3	156	12
<b>Pupas</b>	33	-	-	-	92	30
<b>Obreras/Machos</b>						
<b>Pupas Reales cerradas</b>	18	-	4	-	15	5
<b>Pupas Reales abiertas</b>	15	-	16	-	-	5
<b>Celdas larvales</b>	1	-	-	1	7	2
<b>Celdas huevo</b>	8	-	1	1	17	9
<b>Polen</b>	-	-	-	-	Si	Si (****)
<b>Néctar</b>	-	-	-	Si	Si	Si (****)
<b>Nuevas Reinas</b>	-	-	1	-	30	-
<b>Machos</b>	-	-	-	-	25	23

### **Análisis morfométrico de los nidos expuestos a condiciones de exterior**

El análisis morfométrico de las celdas pupales se realizó sobre las tres colonias que concluyeron su ciclo en el mes de abril del año 2020, siendo dos de ellas desarrolladas en Jaulas nido final B, de madera, y una en Jaula nido final A, de plástico (Tabla 18). Sólo en una Jaula nido final B, de madera, pudieron medirse las pupas reales debido a que esta fue la más prolífica en cuanto a descendencia y el material de estudio se conservó mejor. Si bien las otras dos colmenas restantes (una Jaula nido final A y una B) produjeron sexuados, las colonias se encontraban estructuralmente muy deterioradas al momento de la

muerte de la progenie.

El análisis morfométrico de los adultos fue realizado sobre las mismas tres colmenas anteriores (Tabla 19).

**Tabla 18. Análisis morfométrico de celdas pupales producidas en colmenas manejadas en semiconfinamiento. Se expresan en milímetros los valores máximos, mínimos, su promedio y desvío estándar.**

Colonia	Celda	Diámetro		$\bar{x} \pm DS$	N	Largo		$\bar{x} \pm DS$	N
		Máx.	Mín.			Máx.	Mín.		
Jaula nido final B (madera) (18L)	real	16,65	13,36	$15,23 \pm 0,75$	26	23,35	18,12	$21,01 \pm 1,29$	21
	obrero	10,71	9,07	$9,97 \pm 0,83$	3	12,19	11,74	$11,96 \pm 0,23$	3
	zángano	11,52	7,7	$9,72 \pm 1,01$	14	14,86	9,72	$12,17 \pm 1,77$	14
	obrero/ zángano	11,34	6,64	$10,15 \pm 0,89$	45	15,97	8,52	$13,27 \pm 1,5$	45
	obrero	10,4	8,67	$9,29 \pm 0,96$	3	13,66	12,34	$13,04 \pm 0,66$	3
Jaula nido final B (madera) (5L)	zángano	10	8,24	$8,84 \pm 0,49$	11	13,67	10,49	$12,43 \pm 0,85$	11
	obrero/ zángano	9,9	8,87	$9,38 \pm 0,42$	5	13,65	12,15	$13 \pm 0,54$	45
	obrero	9,13	7,41	$8,38 \pm 0,46$	11	13,09	10,22	$11,91 \pm 0,85$	11
Jaula nido final A (plástico) (20C)	zángano	11,88	8,1	$10,12 \pm 1,34$	8	13,8	11,75	$13,06 \pm 0,71$	8
	Obrero/ zángano	9,74	8,61	$8,94 \pm 0,38$	7	13,76	12,17	$10,29 \pm 0,67$	7

**Tabla 19. Análisis morfométrico de adultos producidos en colmenas manejadas en semiconfinamiento.** Se expresan en milímetros los valores máximos, mínimos, su promedio y desvío estándar.

Colonia	Adulto	Ancho mesosoma Máx.	Ancho mesosoma Mín.	$\bar{X} \pm DS$	N	Largo Máx.	Largo Mín.	$\bar{X} \pm DS$	N
<b>Jaula nido final B (madera) (18L)</b>	reina	12,3	10,75	11,54 ± 0,55	7	21,03	18,08	19,83 ± 1,28	7
	obrero	8,2	5,8	6,93 ± 0,81	9	16,83	11,28	13,56 ± 2,27	9
	zángano	8,3	4,24	6,4 ± 1,49	7	12,51	6,12	9,83 ± 2,19	7
<b>Jaula nido final B (madera) (5L)</b>	obrero	8,24	4,54	6,25 ± 1,05	26	18,04	8,8	11,72 ± 1,95	26
	zángano	7,89	4,39	5,99 ± 1,16	7	12,68	10,3	11,28 ± 0,93	7
<b>Jaula nido final A, (plástico) (20C)</b>	obrero	10,36	6,71	7,9 ± 1,69	4	15,29	10,99	12,32 ± 2,03	4
	zángano	7,28	6,25	6,73 ± 0,52	3	13,46	12,66	12,93 ± 0,46	3

En las colonias colocadas en exterior, se observó que el desarrollo en las Jaulas nido final B, de madera, se caracterizó por una expansión predominantemente ascendente y frontal, generando una estructura escalonada a modo de cascada. A su vez se observó una estrecha relación entre el número de integrantes de la colonia y su desarrollo volumétrico, evidenciando que aquellas con mayor cantidad de individuos presentaron dimensiones más significativas.

La colmena 5L, en Jaula nido final B, exhibió un crecimiento ascendente ocupando tres cuartas partes del ancho del alojamiento ofrecido al inicio (Jaula de inicio B) y la totalidad de su profundidad,

generando un máximo de 5 niveles de cría. Como resultado, la colonia alcanzó una altura de 7,5 cm, con una base de 9,5 cm x 8,5 cm.

En el caso de la colmena 18L, en Jaula nido final B, su desarrollo se extendió más allá de los límites de la Jaula de inicio, expandiéndose frontalmente hacia la malla metálica de la Jaula nido final y, de manera ascendente, llegando al límite de la parte superior. Las medidas de la colonia resultaron en 12 de alto y ancho por 17,5 cm de profundidad. Se observó la presencia de más de 5 niveles de cría distribuidos no sólo verticalmente sino también hacia adelante.

En el caso de la colonia 20C, en Jaula nido final A, de plástico, presentó un crecimiento limitado a tres niveles, uno de los cuales excedió el límite frontal de la Jaula de inicio, extendiéndose hacia la malla metálica de la jaula de cría. Esto resultó en dimensiones de 5 cm de altura, 13 cm de profundidad y 10 cm de ancho.

### ***Desarrollo de colmenas en confinamiento***

Las colmenas gestionadas exclusivamente en condiciones de confinamiento no produjeron reinas nuevas ni pupas reales. La aparición de machos se observó hacia el final del ciclo de desarrollo de cada colonia el cual, final que, a su vez, fue muy variable para cada una de las colonias.

Las colonias sometidas al confinamiento enfrentaron desafíos que impactaron negativamente en su desarrollo, llevando al pronto declive de las mismas. Se constató una proliferación excesiva de polillas (*Achroia grisella*) en las Jaulas nido final B, de madera, y acumulación de detritos en Jaulas nido final A, plásticas, situaciones que no se presentaron en las colmenas manejadas en condiciones de exterior.

La máxima producción de obreras se registró a mediados de enero decreciendo progresivamente a partir de dicho momento (Tabla 20). Si bien se produjeron machos, su presencia se verificó en las colmenas a finales de enero y hasta mediados de febrero. La generación de zánganos es mucho más temprana en comparación con aquellas colmenas mantenidas en situación de semiconfinamiento

exterior, donde los machos pudieron verificarse a mediados de marzo, aproximadamente unos 30 - 45 días más tarde.

A partir de mediados de febrero, se hizo evidente el decaimiento de todas las colmenas mantenidas en confinamiento total. La mayoría de las reinas presentes en esta fase comenzaron a morir, y lo mismo se verificaba con las obreras, cuya muerte se producía en grupos. No se observó la puesta de huevos más allá de los que dieron inicio a la colonia y, en el caso de pupas remanentes, no se detectó emergencia; la apariencia de la cera en las colmenas se tornó porosa y oscura.

Se proporcionan detalles específicos sobre el estado del desarrollo de una colonia en Jaula nido final B, de madera (Fig. 60 a-c) y una colonia en Jaula nido final A, de plástico (Fig. 61 a-c), las demás colonias obtenidas en confinamiento se detallan en la sección Anexo.

**Tabla 20. Estado de las colonias mantenidas en confinamiento total, hacia el final del ciclo de desarrollo de las mismas.** Se especifica la fecha de muerte de la reina, producción total de obreras, presencia de machos y muerte estimada de la colonia.

	<b>Inicio de la colonia</b>	<b>Muerte Reina</b>	<b>Total Obreras</b>	<b>Machos</b>	<b>Muerte Colonia</b>
<b>Jaula nido final B (madera)</b>					
<b>1L</b>	16/08/19	18/02/20	46	si	18/02/20
<b>11L</b>	26/08/19	27/01/20	76	no	11/03/20
<b>12L</b>	22/08/19	28/02/20	85	no	27/02/20
<b>13L</b>	26/08/19	21/01/20	124	si	11/02/20
<b>16L</b>	02/09/19	21/01/20	55	no	04/02/20
<b>22L</b>	11/09/19	16/12/20	10	no	18/02/20
<b>27L</b>	30/09/19	10/03/20	20	no	17/02/20
<b>Jaula nido final A (plástico)</b>					
<b>6C</b>	20/08/19	06/01/20	39	no	02/03/20
<b>7C</b>	20/08/19	26/11/19	24	no	21/01/20
<b>14C</b>	02/09/19	20/01/20	60	no	11/02/20
<b>15C</b>	02/09/19	02/03/20	64	no	26/02/20
<b>16C</b>	03/09/19	20/01/20	62	no	26/02/20
<b>19C</b>	03/09/19	17/02/20	66	no	26/02/20
<b>23C</b>	09/09/19	27/01/20	46	no	17/03/20
<b>24C</b>	10/09/19	27/01/20	79	no	17/03/20



**Figura 60:** Progreso de colonia en Jaula nido final B, de madera, mantenida en total confinamiento. Colonia 1L: (a) detalle del estado de desarrollo al momento de la ampliación de la colmena, traslado de la caja nido de inicio a la Jaula nido final B; (b) progreso de la colonia, con el respectivo aumento de tamaño y número de ocupantes; (c) estado de la colonia al momento de la muerte de la misma.



**Figura 61:** Progreso de colonia en Jaula nido final A, de plástico, mantenida en total confinamiento. Colonia 15C: (a) detalle del estado de desarrollo al momento de la ampliación de la colmena, traslado de la Jaula nido de inicio a la Jaula nido final; (b) progreso de la colonia, con el respectivo aumento de tamaño y cantidad de ocupantes; (c) estado de la colonia al momento de la muerte de la misma.

### ***Análisis morfométrico de una colmena mantenida en total confinamiento***

El análisis morfométrico de las celdas pupales y de los adultos se realizó sobre la colmena 1L (Tabla 21 y 22 respectivamente), colonia desarrollada en Jaula nido final B, de madera, y que produjo obreras y zánganos.

**Tabla 21. Análisis morfométrico de celdas pupales obtenidas en Jaula nido final B en situación de confinamiento.**  
Se expresan el valor máximo y mínimo, obtenido en mm, promedio y desvío estándar calculados.

		<b>Diámetro máx.</b>	<b>Diámetro mín.</b>	$\bar{X} \pm DS$	<b>N</b>	<b>Largo máx.</b>	<b>Largo mín.</b>	$\bar{X} \pm DS$	<b>N</b>
<b>Celda</b>	obrero	10,11	8,13	9,33 $\pm$ 0,62	7	14,97	10,75	12,42 $\pm$ 1,65	7
	zángano	11,22	8,04	9,5 $\pm$ 0,91	12	15,62	5,49	12,01 $\pm$ 2,78	12

**Tabla 22. Análisis morfométrico de adultos obtenidos en Jaula nido final B en situación de confinamiento.** Se expresan el valor máximo y mínimo, obtenido en mm, promedio y desvío estándar calculados.

		<b>Ancho mesosoma máx.</b>	<b>Ancho mesosoma mín.</b>	$\bar{X} \pm DS$	<b>N</b>	<b>Largo máx.</b>	<b>Largo mín.</b>	$\bar{X} \pm DS$	<b>N</b>
<b>Adulto</b>	obrero	7,32	4,34	5,3 $\pm$ 0,68	21	15,5	9,62	11,69 $\pm$ 1,53	21
	zángano	7,03	4,76	5,83 $\pm$ 0,64	14	14,52	10,93	13,15 $\pm$ 0,9	14

### ***Actividad de forrajeo y su relación con los parámetros temperatura y humedad relativa ambiente***

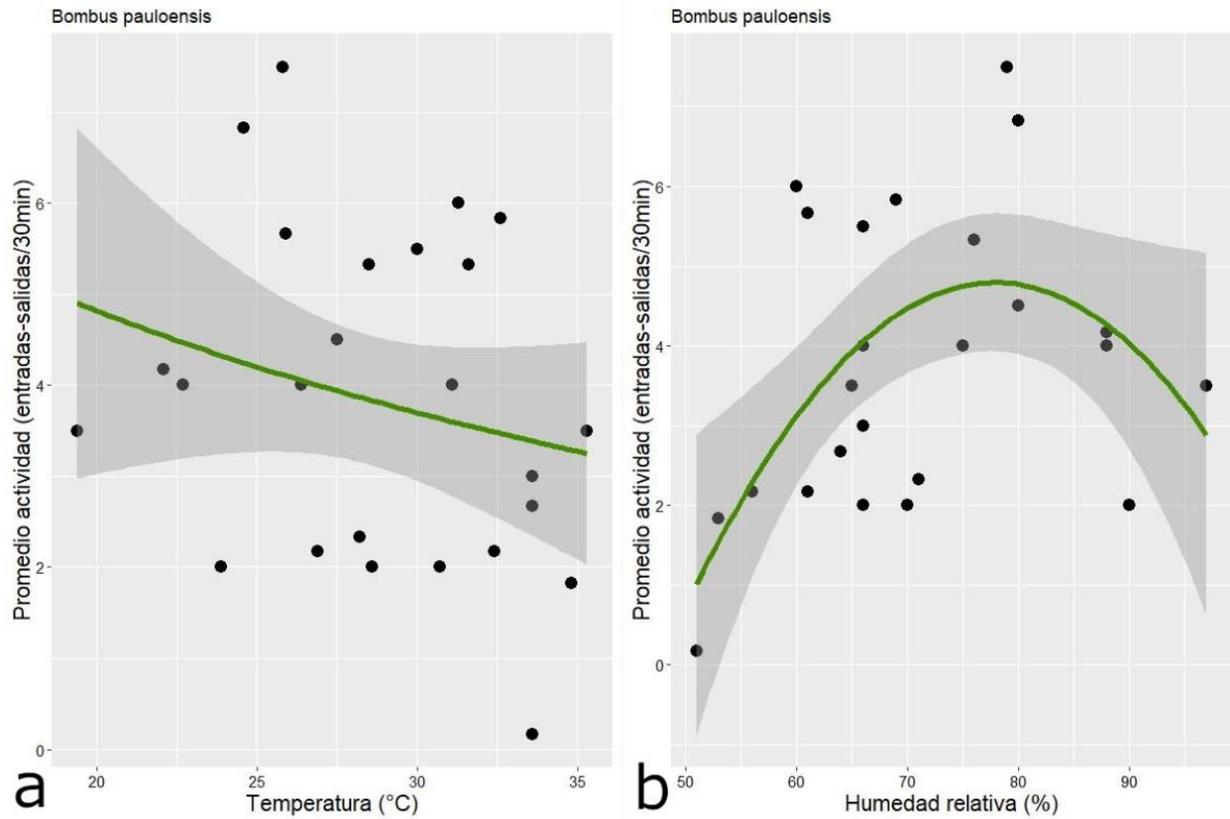
El rango de temperatura durante el desarrollo de este experimento varió desde 19,4°C a 35,3°C y la humedad relativa ambiente de 51% a 97%. En la Tabla 23 se muestra el promedio de los registros de actividad de las obreras (entradas y salidas) de ambos tipos de Jaula nido final y los valores de temperatura y humedad relativa ambiente para cada momento de observación.

**Tabla 23: Actividad (promedio de entradas y salidas) de las obreras de seis Jaulas nido final en estudio y registro de la temperatura ambiente y humedad relativa registrada al comienzo de cada observación de campo.**

Momento	Actividad ( $\bar{x}$ )	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)
T1	6	31,3	60
T2	2,2	32,4	56
T3	0,2	33,6	51
T4	1,8	34,8	53
T5	5,6	25,9	61
T6	2,2	26,9	61
T7	2	23,9	90
T8	4,5	27,5	80
T9	4	26,4	75
T10	2,3	28,2	71
T11	5,5	30	66
T12	4	31,1	66
T13	5,3	28,5	76
T14	5,3	31,6	76
T15	5,8	32,6	69
T16	3	33,6	66
T17	2,6	33,6	64
T18	3,5	35,3	65
T19	4,2	22,1	88
T20	4	22,7	88
T21	6,8	24,6	80
T22	7,5	25,8	79
T23	2	28,6	70
T24	2	30,7	66
T25	3,5	19,4	97

El análisis GLMM verifica que existe un efecto significativamente negativo del aumento de temperatura sobre la actividad de forrajeo de *B. pauloensis* (Fig. 62 a). Con respecto a la humedad relativa ambiente, se encontró que el modelo que mejor ajusta y explica la actividad de forrajeo censada presenta un término cuadrático, por lo que la función reportada es polinómica, demostrando que la actividad de forrajeo crece a medida que aumenta la humedad hasta un rango óptimo de forrajeo (entre 75 - 80% HR), luego del cual se observa un descenso de la actividad (Fig. 62 b). Se presentan los estadísticos de

cada uno de los modelos estimados en la Tabla 24.



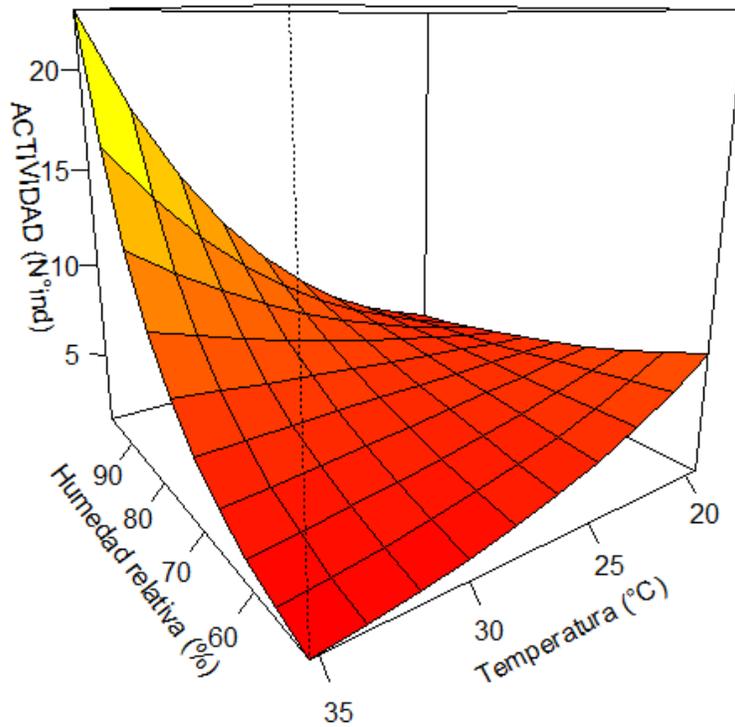
**Figura 62:** Actividad de forrajeo promedio en función de factores ambientales. Se reportan los mejores modelos del ajuste del efecto para (a) temperatura y (b) humedad relativa. Los puntos negros corresponden a los estimadores calculados (réplicas temporales), la línea verde a la función del modelo GLMM entre las variables relacionadas y el área sombreada es el intervalo de confianza calculado para cada modelo.

**Tabla 24. Influencia de factores ambientales en la actividad de *Bombus pauloensis*.** Detalle de los modelos seleccionados para la variable “Actividad”, con los factores fijos extraídos de los censos de actividad para el conjunto total de datos. Se denota el estimador, el error estándar (SE), el valor del estadístico T y el valor P.

Variable respuesta (VR)	Factor Fijo (FF)	Intercepto	Estimador	SE	T	P
Actividad de forrajeo	<i>Temperatura</i>	2.927	-6.065e-02	1.675e-04	-362.2	<2e-16
	<i>Humedad*</i>					
	Humedad	-13.9561	0.3974	0.1012	3.927	8.61e-05
	(Humedad)^2		-0.0025	0.0007	-3.672	0.0002

\* Se reportan los estadísticos de ambos términos del modelo cuadrático que mejor ajusta (AIC).

Mediante la aplicación de la función GAM (Modelo Aditivo Generalizado) se pudo verificar que la actividad de forrajeo de esta especie de abejorros está modelada significativamente por la temperatura y humedad relativa, actuando de forma conjunta y contrastante en relación a los efectos individuales. Este resultado muestra que el aumento conjunto de la temperatura y la humedad relativa, al contrario de lo que se ve de forma independiente, favorece la actividad de forrajeo. Esto quiere decir que, a una misma temperatura extrema dada (por ejemplo 35 °C la cual sería una temperatura subóptima para el forrajeo), el aumento de la humedad relativa (por ejemplo 90%) genera que el potencial de forrajeo aumente sobre lo esperado, alcanzando valores cuatro veces mayores que a menores temperaturas (20 °C) con la misma humedad relativa (Fig. 63 y Tabla 25).



**Figura 63:** Representación tridimensional de la relación entre humedad y temperatura en las actividades de forrajeo de *B. pauloensis* calculada mediante la aplicación de la función GAM.

**Tabla 25.** Actividad de forrajeo de *B. pauloensis* en función del efecto aditivo de la humedad y temperatura. Detalle de los modelos seleccionados para la variable “Actividad”, con los factores fijos extraídos de los censos de actividad para el conjunto total de datos. Se denota el estimador, el error estándar (SE), el valor del estadístico T, y el valor P.

<b>Función: Actividad de forrajeo ~ Humedad * Temperatura; Gamma (Link=log)</b>						
<b>Actividad forrajeo</b>	<b>Factor Fijo (FF)</b>	<b>Intercepto</b>	<b>Estimador</b>	<b>SE</b>	<b>T</b>	<b>P</b>
	Humedad	105.501	-0.1251	0.0505	-2.477	0.0218
	Temperatura		-0.3847	0.1356	-2.837	0.0099
	Humedad * Temperatura		0.0053	0.0018	2.990	0.007
<b>R-sq. (adj)=</b>	0.166	<b>Deviance explained=</b>	27.30%			

## Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo, en cuanto al efecto de las jaulas manejadas en condiciones de semiconfinamiento, al considerar la producción de sexados como indicador de éxito, indican que no hubo diferencias significativas entre los dos tipos de Jaulas nido final utilizadas para mantener a las colonias. En el 50% de las colmenas de cada tipo se logró la producción de sexados. Sin embargo, se destacó un caso particular en el que el número de reinas y machos producidos fue más del doble, en una de las Jaulas nido final B, de madera, sugiriendo una posible influencia del fitness de la reina. Este hallazgo indicaría una diferencia con respecto a lo registrado para *B. terrestris* donde se observó una mayor producción de sexados en nidos artificiales de policarbonato (Imran et al., 2017). Aparentemente la producción de sexados en *B. pauloensis* no está influenciada por los tipos de Jaulas nido final utilizadas en este trabajo.

Estos resultados concuerdan con la afirmación de otros autores que establecieron que la producción de obreras y reinas es mayor cuando las colmenas desarrolladas a partir de reinas silvestres y criadas en confinamiento se trasladan al exterior (Almanza Fandiño, 2007; Ptacek et al., 2015; Crone & Williams, 2016).

Otro punto a destacar es la presencia de involucro, una cubierta de naturaleza cerosa a modo de tapa, y que retiene el aire caliente dentro del nido. Esta estructura que puede ser creada como complemento por los abejorros (Goulson, 2010), fue detectada tanto en las Jaulas nido final A, de plástico, como en las Jaulas nido final B, de madera, cubriendo total o parcialmente el área de cría. La presencia de este involucro en condiciones de semiconfinamiento sugiere que su función podría ir más allá de simplemente proporcionar aislamiento térmico; también podría ofrecer una protección física a la cría y actuar como un reparo contra la luz, formando una cámara en la que las obreras y la reina pueden moverse libremente entre la cría. Esta estructura fue documentada en un caso aislado de cría en semiconfinamiento, por Sakagami et al. (1976) quienes la describieron como una envuelta incompleta.

Los demás reportes fueron dados en nidos naturales para *B. pauloensis* (González et al., 2004) y en especies como *B. brevivillus* Franklin (Oliveira et al., 2015) y *B. brasiliensis* (Laroca, 1972). Sin embargo, en ninguno de estos estudios se ha analizado específicamente la funcionalidad de este involucro. Este hallazgo sugiere una línea de investigación de importancia que implicaría estudios sobre la adaptabilidad y comportamiento en la construcción del nido de *B. pauloensis*.

Además, también en ambos tipos de Jaula nido final utilizados, se registró una respuesta termorreguladora por parte de las obreras, quienes dedicaron parte de su tiempo a ventilar la colmena a partir de los 31°C, abanicando sus alas en la entrada. Este comportamiento termorregulador es conocido como “fanning” y aumenta activamente la circulación de aire dentro de la colmena reduciendo la temperatura lo que permite mantener condiciones térmicas óptimas para el desarrollo de la cría (Weidenmüller et al., 2002). Tanto en *B. terrestris* (Weidenmüller et al., 2002; Weidenmüller, 2004; Westhus et al., 2013) como en *B. bifarius* (O’Donnell & Foster, 2001), se ha comprobado que la variabilidad individual en la respuesta a los estímulos ambientales juega un papel crucial en la adaptación de las colonias de abejorros al cambio de temperatura y en la organización del trabajo dentro de la colonia para mantener condiciones óptimas en el nido.

El análisis morfométrico de las celdas pupales ofrece un parámetro de estimación del tamaño de los adultos emergentes del correspondiente cocón. Se observó que la diferencia de dimensiones entre el adulto y el cocón, especialmente en el largo, fue de aproximadamente 1 mm, siendo menos frecuente hallar esta diferencia en el ancho. En cuanto al tamaño promedio de los capullos, al comparar los diámetros obtenidos con los estudiados en nidos naturales para otras especies del subgénero *Thoracobombus* como ser *B. shrencki albidopleuralis* Skorikov y *B. deuteronymus deuteronymus* Schulz por Sakagami y Katayama (1977) resultaron mayores en *B. pauloensis* con diferencias de 2 mm para obreras y 5 mm para reinas al comparar las medias. Con respecto a las especies presentes y estudiadas en Argentina, *B. morio* presenta capullos menos anchos y más largos (7 mm de diámetro por 15 mm

alto) que las medias obtenidas en el presente trabajo con diferencias de 2 mm (más ancho y menos largo), según lo reportado por Sosa y Brewer (1998) tras estudiar un nido natural en la provincia de Córdoba. Además, estos autores informaron sobre el largo de los adultos de dos castas diferentes, reinas y obreras, cuyas medias resultaron en valores 17,10 mm y 13,75 mm respectivamente. Nuevamente se observaron diferencias de aproximadamente 3 mm mayor para la media de las reinas y 2 mm en el caso de la media de las obreras con respecto a las registradas para *B. pauloensis* en este trabajo.

Otro aspecto relevante considerado en este estudio fue el impacto de la cantidad de obreras presentes al inicio del manejo en exterior sobre el desarrollo de la colonia. Se hipotetizó, que una mayor cantidad de obreras inicial podría mejorar el desempeño en términos de aprovisionamiento de recursos, defensa, y/o cuidado de la cría en desarrollo (Schmid-Hempel & Heeb, 1991). Los resultados obtenidos muestran que las colonias con al menos 20 obreras mostraron una buena adaptación al cambio de ambiente y lograron producir sexuales. Es más, varias situaciones diferentes pudieron ser observadas, como la pérdida de la reina y que se dieran ambos casos esperables: que la colmena continúe su desarrollo y que, además, produzca sexuales, como fuera observado para *B. pauloensis* (Matos & Garofalo, 1995) y para *B. terrestris* (Ptacek, 2001) o, que cese su desarrollo, desapareciendo la colonia. Se observó también que colmenas clasificadas como “pequeñas” en este trabajo de Tesis, con al menos 20 obreras, pueden tener un buen desempeño en cuanto a la producción de sexuales que garanticen una descendencia para la siguiente temporada, contrario a lo expuesto por Schmid-Hempel y Heeb (1991) para *B. lucorum* Latreille.

En cuanto a la comparación del desarrollo de colmenas manejadas en semiconfinamiento respecto a colmenas mantenidas en confinamiento total, se pudo observar que en los casos en que se produjeron sexuales, solo se trató de machos y su registro se adelantó en el tiempo con respecto a los producidos por colonias en semiconfinamiento, mantenidas en el exterior, lo que lleva a pensar que bajo las

condiciones mantenidas en total confinamiento se produce un “switch point” temprano (la reina pasa de poner huevos diploides a poner huevos haploides) tal como ocurre en *B. terrestris* (Ptacek, 2001), y que el estrés por confinamiento afecta el normal desarrollo de las colonias lo que deriva en la senescencia y muerte más temprana de las mismas (Cnaani et al., 2002; Smeets & Duchateau, 2003).

Por otro lado, la ausencia de producción de reinas en situación de confinamiento llevaría a inferir que, para su generación, se podrían necesitar condiciones diferentes, como ser una temperatura ambiental más elevada tal como las registradas en condiciones de exterior. Este razonamiento coincide con lo reflejado en varios trabajos, donde la producción de reinas de *B. terrestris* fue mayor a temperaturas iguales o superiores a 30°C (Nasir et al., 2019; Giraud et al., 2021). Resulta necesario no descartar que una alimentación que satisfaga las necesidades de la colonia resultaría de suma importancia en el desarrollo de sexados y por ello la posibilidad del libre pecoreo llevaría a conseguir esos recursos necesarios en el área de hábitat natural (Pelletier & McNeil, 2003; Crone & Williams, 2016; Spiesman et al., 2017; Riaño-Jimenez et al., 2020). Con respecto al desempeño de las colonias mantenidas en confinamiento, en jaulas construidas por diferentes materiales, si bien no se produjeron sexados en las Jaulas nido final A, de material plástico, estas jaulas nido final albergaron colonias con un mayor número de obreras y presentaron una fecha de muerte más prolongada en el tiempo en comparación con las Jaulas nido final B, construidas en madera (Tabla 19) por lo que realizar algunas mejoras como conectar una cámara de defecación y ejercer un mayor control sobre la proliferación de polillas (*Achroia grisella*), serán tópicos a tener en cuenta en un futuro.

Por otro lado, aunque la fuente de alimentación está estrechamente relacionada con el desempeño de la colonia y la producción de sexados (Crone & Williams, 2016), factores como la frecuencia de alimentación (Ribeiro et al., 1996), temperatura y humedad (Gurel & Gosterit, 2008), y el material de alojamiento (Imran et al., 2017) influyen en el desarrollo de las colonias.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican una correlación significativa entre la actividad de

forrajeo de *B. pauloensis* y las condiciones ambientales registradas, con actividad de los individuos en un rango de temperatura de 19 a 35°C. La actividad de forrajeo no cesó con el aumento de la temperatura, sugiriendo que esta especie podría verse menos afectada por un aumento de temperatura generalizado, como consecuencia del cambio climático, en comparación con otras (Nielsen et al., 2017; Kenna et al., 2021; González et al., 2022c). Se ha informado que el comportamiento de forrajeo de *B. terrestris*, en Irlanda (Karbassioon et al., 2023) y Asia (Lee et al., 2016) y otros abejorros en Noruega (Nielsen et al., 2017) resultó levemente afectado por los cambios en la temperatura en comparación con *Apis mellifera*. Sin embargo, es crucial destacar que estos resultados responden a rangos de temperatura menos variables y extremos que el registrado en el presente trabajo. Por otro lado, resulta de interés mencionar, que las especies de climas más cálidos tienden a presentar setas torácicas más cortas que las especies de climas más fríos, lo que aumentaría la pérdida de calor (Peat et al., 2005) resultando en una mejor adaptación a temperaturas ambientales más elevadas.

Este patrón de comportamiento, disminución de la actividad de pecoreo frente al aumento de la temperatura ambiente, también se refleja en estudios previos con poblaciones de *B. pauloensis* en condiciones climáticas diferentes realizados en Bogotá, Colombia (Tellez-Farfán & Posadas-Flores, 2013). Este fenómeno también fue registrado para *B. impatiens* en entornos controlados de laboratorio (Couvillon et al., 2010), así como en condiciones de invernadero (Palma et al., 2008), y para *B. terrestris* (Kwon & Saeed, 2003). Estudios adicionales realizados en laboratorio indican que a medida que la temperatura aumenta se observa una disminución en la distancia de vuelo media (Kenna et al., 2021), lo cual fue verificado también para los abejorros *B. hypnorum* Linnaeus y *B. terrestris/lucorum* en parches de zarzamora (*Rubus fruticosus*) en Europa (Uthoff & Ruxton, 2022).

Dicho comportamiento, en relación al aumento de la temperatura, probablemente sea atribuible al incremento de la temperatura en los músculos de vuelo de los abejorros, lo cual no sería beneficioso en un entorno cuya temperatura ambiental sea elevada ya que podrían sufrir sobrecalentamiento (Alford,

1978; Heinrich, 2004). Además, el incremento de temperatura genera en las obreras una respuesta termorreguladora, dedicando un mayor tiempo a ventilar la colmena, abanicando sus alas en la entrada del nido con el objetivo de mantener condiciones térmicas óptimas que garanticen el adecuado desarrollo de la cría (O'Donnell & Foster, 2001; Weindenmüller et al., 2002), por lo que se vería reducido el número de obreras pecoreando.

En relación con la humedad relativa ambiente, la actividad de pecoreo de *B. pauloensis* aumentó conforme aumentó la misma, alcanzando un punto máximo entre el 75% y el 80%, a partir del cual experimentó un descenso. Este patrón concuerda con investigaciones previas sobre *B. terrestris*, en las que se ha establecido una relación positiva entre la actividad de pecoreo y la humedad relativa ambiente, especialmente en lo que respecta a la recolección de néctar (Peat & Goulson, 2005). Este fenómeno podría atribuirse a una posible mayor tasa de secreción de néctar por parte de las plantas o una menor evaporación del mismo en condiciones de alta humedad. Por otro lado, la actividad de forrajeo, a menudo asociada con la carga visible de polen en las corbículas (Thorp, 2000), podría verse afectada negativamente en condiciones de elevada humedad. En el estudio realizado por Uthoff y Ruxton (2022), los autores respaldan la influencia positiva del aumento de la humedad relativa ambiente en la presencia de abejorros de las especies *B. hypnorum* y *B. terrestris/lucorum* en parches de zarzamora. Para el caso particular de *B. terrestris* en manzanos, se reportó que la actividad de pecoreo se vio afectada cuando la humedad relativa ambiente era mayor a 57% (Karbassioon et al., 2023). Además, en cultivos de sandía (*Citrullus vulgaris* Schrad) bajo cubierta, *B. terrestris* y *B. ignitus* Smith tendieron a escapar del invernadero cuando la humedad relativa fue muy baja (Lee et al., 2012).

Considerando el efecto interactivo de ambos parámetros ambientales sobre la actividad de forrajeo se evidenció una relación contrastante en comparación con los efectos observados al ser analizados de forma individual. El aumento conjunto de la temperatura y la humedad relativa favoreció la actividad de forrajeo, en oposición a lo observado en condiciones de temperaturas elevadas combinadas con baja

humedad relativa, como se ha reportado en el estudio de Lee et al. (2012) donde se registró una disminución en la actividad de polinización de *B. terrestris* en dichas condiciones. En situaciones opuestas, de baja temperatura y humedad superior al 60%, se observó que el rendimiento de *B. impatiens* prevaleció en cultivos de arándano frente a otros polinizadores (Tuell & Isaac, 2010). Este resultado del efecto interactivo sobre la actividad polinizadora presenta un interés significativo, especialmente en el contexto de la utilización de abejorros para polinización en invernaderos donde las condiciones ambientales son susceptibles de control.

## Conclusiones

Con respecto al desarrollo de colonias en semiconfinamiento en Jaulas nido final A, de plástico, y B, de madera, no se observó un mejor desempeño relacionado con el tipo de jaula utilizada. En ambos tipos de Jaula nido final se registró la construcción del involucro y la respuesta termorreguladora de las obreras ante un aumento de temperatura ambiental por lo que también se descarta la influencia del material en cuanto a estos aspectos del desempeño de las colmenas.

En condición de confinamiento total, las Jaulas nido final A, de material plástico, albergaron colonias con una vida más prolongada en el tiempo y con un mayor número de obreras, en comparación con las Jaulas nido final B, de madera, sin embargo, en ningún caso produjeron formas sexuadas en estas jaulas. Además, se observó que, las dimensiones de los capullos vacíos que se mantuvieron en buen estado son un buen indicador para estimar el tamaño del adulto.

El estudio de la fenología de pecoreo proporcionó información valiosa, mostrando que las colonias de abejorros demostraron una menor productividad en condiciones climáticas extremas, ya sea por temperaturas o humedad excesivas. Aunque la actividad de pecoreo no se interrumpió por completo, se observó que el pecoreo se optimiza cuando hay una coincidencia entre altas temperaturas y alta humedad, y viceversa.

Descripción de la arquitectura de nidos naturales y condiciones internas microambientales



## Introducción

La importancia de las abejas silvestres en la polinización agrícola y la conservación de la biodiversidad ha generado un renovado interés en su estudio y preservación (Dainese et al., 2019; Basualdo et al., 2022). La relación entre la expansión agrícola y el declive de los polinizadores plantea preocupaciones sobre la pérdida de biodiversidad (Aizen et al., 2022). En este contexto, el género *Bombus*, destaca como un polinizador clave (Goulson, 2010). La principal amenaza para los abejorros en Europa, según estudios previos (Goulson et al., 2008; Williams y Osborne, 2009), se centra especialmente en la pérdida de hábitat.

La comprensión de los patrones de selección de hábitat y la arquitectura de los nidos de abejorros es esencial para su ecología y conservación. Los abejorros tienden a nidificar de manera generalista en diversos tipos de paisajes, sin presentar preferencias evidentes en cuanto a los tipos de entornos dentro de los subgéneros (Liczner & Colla, 2019). Los nidos subterráneos fueron la ubicación más comúnmente observada para todos los subgéneros y paisajes, excepto *Thoracobombus*, *Megabombus*, *Cullumanobombus* y *Sibiricobombus* (Liczner & Colla, 2019). Tal es el caso de *B. pauloensis* que muestra flexibilidad, anidando tanto en la superficie como en cavidades subterráneas (Sakagami et al., 1967; Cameron y Jost, 1998; Gonzalez et al., 2004; Osborne et al., 2008; Oliveira et al., 2015). Esta flexibilidad en la selección de hábitat puede ser crucial para la adaptación y persistencia de la especie en entornos diversos y en constante cambio, como así también para su potencial manejo en condiciones de confinamiento.

En el neotrópico se han observado diversas características en cuanto a la nidificación de los abejorros, como la construcción de coberturas sobre los nidos y mecanismos de termorregulación para mantener condiciones óptimas para el desarrollo de la colonia (Sakagami et al., 1967; Taylor & Cameron, 2003; González et al., 2004; Hines et al., 2007; Oliveira et al., 2015).

A pesar de los avances, aún existen vacíos en el conocimiento sobre aspectos de la nidificación y los

parámetros microambientales internos de *B. pauloensis* en Argentina. Este estudio aborda estos vacíos al examinar los sitios de nidificación, la estructura de los nidos y los parámetros microambientales internos de *B. pauloensis* en la provincia de Tucumán. Los resultados esperados proporcionarán información crucial sobre las adaptaciones específicas de esta especie, lo que puede ser fundamental para su éxito en diversos entornos.

Por tanto, para el desarrollo de este capítulo se proponen dos **objetivos específicos** y **dos hipótesis** correspondientes:

1. Describir la arquitectura de los nidos naturales de *B. pauloensis*, incluyendo la disposición de las celdas, los materiales utilizados en la construcción, el hábitat donde se encuentra, y cualquier variabilidad observada entre diferentes nidos.

Hipótesis: La arquitectura de los nidos de *B. pauloensis* y su hábitat exhiben adaptaciones específicas para maximizar la eficiencia reproductiva y la supervivencia de colonias en confinamiento.

- 2 Registrar y analizar las condiciones microambientales dentro de los nidos naturales de *B. pauloensis*.

Hipótesis: La Temperatura y Humedad relativa dentro de los nidos de *B. pauloensis* es activamente regulada.

## **Materiales y Métodos**

Se localizaron 11 nidos naturales de *Bombus sp* en diferentes zonas de la provincia de Tucumán: Horco Molle (Yerba Buena, región biogeográfica: Yungas), Tafí Viejo (región biogeográfica: Chaco serrano y transición Yungas-Chaco) y San Miguel de Tucumán (región biogeográfica: Chaco serrano). Los nidos

fueron divididos en dos grupos según su tratamiento; siete de ellos fueron extraídos para describirlos (Tabla 30) y a los otros cuatro se les colocó un data-logger para medir los parámetros internos microambientales de temperatura y humedad relativa (Tabla 31). Se tomaron muestras de individuos que fueron enviados al laboratorio de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, para su debida identificación y donde quedaron depositados como ejemplares de referencia.

### **Trabajo de campo**

Mientras los nidos aún se hallaban en su hábitat natural, se realizó la descripción externa de la cobertura y área ocupada y fueron fotografiados. Para tales efectos se utilizó la nomenclatura propuesta por Moure y Skagami (1962) para clasificar nidos naturales de *Bombus sp.*: 1) sitio de nidificación, 2) naturaleza del revestimiento exterior y de entrada, 3) presencia de cubierta de cera (involucro).

En cuanto a la medida de las dimensiones (largo, ancho y profundidad), tanto de la cobertura externa (si estuviera presente) como de los nidos en sí, se utilizaron diferentes instrumentos de medida de escala gradual longitudinal (en ocasiones regla y en otras cinta métrica dependiendo de las facilidades que cada dispositivo otorgaba para realizar las medidas); tamaño y orientación de la entrada, así como su ubicación. En los casos en que los nidos se hallaban en cavidades también se tomaron las medidas de longitud, ancho y profundidad de las mismas.

Para el estudio detallado de dos de los nidos ubicados en Horco Molle, estos fueron tratados con un insecticida (Raid®) a base de Imitropina (0.06%) y Cipermetrina (0.1%). Se procedió a rociar el veneno en la entrada del nido y tapanlo con un recipiente de plástico en horas de la tarde avanzada, asumiendo la presencia de la mayoría de los integrantes de la colonia en su interior. Tras esperar 14 horas para que el producto hiciera efecto, se procedió a la toma de datos superficiales y remoción completa.

También, en este grupo descriptivo, fueron incluidos nidos encontrados en domicilios particulares a los cuales se los describió de la misma manera que los anteriores. Luego, los nidos fueron recogidos manualmente y se colocaron en cajas de poliestireno expandido con una abertura superior de 4 cm de

diámetro, cuya función fue permitir la entrada y salida de las obreras, y se procedió a su reubicación. Los nidos de Tafí Viejo y San Miguel de Tucumán se dejaron en la misma ubicación y orientación. Se esperó hasta la noche cerrada con el fin de que ingresaran las obreras que no se habían trasladado con el nido. Luego, cada uno se trasladó al domicilio particular de la autora y se coló bajo techo, orientando la salida hacia el oeste. El nido de El Corte, Yerba Buena fue reubicado en el mismo domicilio particular. Se mantuvo en su ubicación original durante 15 días y, posteriormente, se trasladó a unos 40 metros hacia el este. Para describirlos internamente se esperó hasta su muerte natural.

En el segundo grupo se procedió a describirlos superficialmente y registrar los parámetros microambientales internos (Tabla 31). Se seleccionaron cuatro nidos naturales y uno mantenido en semiconfinamiento en la Estación Experimental INTA Famaillá. Este nido artificial se tomó como complemento para valorar los parámetros de las condiciones internas en las cajas de cría utilizadas en esta tesis y realizar una comparación con los parámetros de nidos naturales.

Para el registro de los parámetros internos microambientales se procedió a colocar un registrador de datos externo (data-logger marca: HOBO onset, modelo: U12-012). Este aparato de medición fue colocado en un contenedor plástico transparente (tipo clamshell) con aberturas que permiten la circulación del aire tratando de mantener la integridad del instrumental. Se programó un registro de las condiciones de temperatura y humedad cada 15 minutos y, con los datos obtenidos, se calculó la media en base al total del número de días de observación. Al mismo tiempo se obtuvieron los registros de temperatura y humedad relativa en casilla meteorológica a nivel local ambiente en cada ubicación. Para el caso de los nidos en Horco Molle se utilizaron los datos meteorológicos registrados por la estación meteorológica de Lules [La Bomba, Lat.: -26.90950 Long.: -65.35183; elevación(msnm): 481] y para los nidos ubicados en Tafí Viejo, la estación de El Colmenar [Lat.: -26.80000 Long.: -65.20000; elevación (msnm): 481] provistos por la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (<https://agromet.eeaoc.gob.ar/>); para el caso de la colonia mantenida en semiconfinamiento se

utilizaron los datos registrados por la Estación Meteorológica Convencional – INTA EEA Famaillá [Lat.: -27.0171825 Long.: -65.3793983; elevación(msnm): 378 m].

### ***Trabajo de laboratorio***

Los nidos extraídos fueron trasladados al laboratorio para el estudio de su arquitectura interna (Tabla 30). Luego de la descripción de las características externas, los nidos se limpiaron del exceso de tierra suelta con pincel y se colocaron en envases de cartón para su transporte al laboratorio, donde se realizaron las demás mediciones y toma de fotografías. Se llevó a cabo un análisis estructural del nido, teniendo en cuenta los niveles del nido, la disposición de las celdas de cría, pupas y restos de puparios, y elementos utilizados para el almacenamiento de reservas como polen y néctar (ex-pupas, vasos de jarabe y bolsillos). También, en los casos en que la integridad del nido lo permitió, se midieron las celdas de obreras, zánganos y reinas, y cuando fue posible se llevó a cabo el conteo o estimación de la población de los nidos.

**Tabla 30: Nidos naturales extraídos.** Denominación de los nidos con letras correspondientes a medida que iban siendo descubiertos; fecha de la localización; ubicación, nombre del lugar, coordenadas geográficas y descripción de la localización; destino: uso de insecticida para extracción segura o relocalización para el estudio luego de su muerte natural.

Nido	Fecha de	Ubicación		Destino
	localización	Lugar	Coordenadas	
	(mes/año)			
C	abr-19	Camino a Horco Molle, Horco Molle, Yerba Buena	(26°47'S - 65°19'O)	Extraído
D	abr-19	EAS, Horco Molle, Yerba Buena	(26°46'S - 65°19'O)	Extraído
E	ene-20	EEA Famaillá	(27°01'S - 65°22'O)	Extraído
F	feb-19	Camino campo EAS, Horco Molle, Yerba Buena	(26°47'S - 65°19'O)	Extraído
G	feb-21	Domicilio particular, Tafi Viejo	(26°44'S - 65°17'O)	Relocalizado
J	mar-21	Domicilio particular, San Miguel de Tucumán	(26°48'S - 65°13'O)	Relocalizado
K	dic-21	Domicilio particular, El Corte, Yerba Buena	(26°48'S - 65°19'O)	Relocalizado

**Tabla 31: Nidos naturales a los que se les colocó data-logger.** Denominación de los nidos con letras correspondientes a medida que iban siendo descubiertos; fecha de la localización; ubicación, nombre del lugar, coordenadas geográficas y descripción de la localización; destino: colocación de data-logger para el registro de parámetros de Temperatura (T) y Humedad relativa (HR) interna

Nido	Fecha de	Ubicación	
	localización	Lugar	Coordenadas
	(mes/año)		
A	mar-19	Campo Experimental EAS, Horco Molle, Yerba Buena	(26°47'S - 65°19'O)
B	abr-19	Jardín Botánico, Horco Molle, Yerba Buena	(26° 79'S - 65° 31'O)
H	feb-21	Domicilio particular, Tafi Viejo	(26°44'S - 65°17'O)
I	mar-21	Domicilio particular, Tafi Viejo	(26°44'S - 65°17'O)

# Resultados

## ***Descripción de nidos naturales***

La información recabada a partir del estudio de los nidos naturales de *B. pauloensis* está resumida de modo general en la Tabla 32. A continuación, se realiza una descripción de aspectos particulares observados en los diversos nidos que aportan información relevante a considerar sobre la nidificación de esta especie.

### **Nido C; Abril - 2019**

El nido se ubicaba sobre la banquina Este del “Camino A Horco Molle”, aproximadamente a unos 4 m de la ruta (Fig. 64 a-d). Construido en un hueco sobre la pared lateral Este de un zanjón, aparentemente natural, colindando con un campo de caña de azúcar al Este y al Oeste y Norte con otro campo de caña más pequeño así como con vegetación nativa, insertos en el Parque Sierra de San Javier. La pared contaba con dos niveles, y el nido se encontraba en el primero, a unos 30 cm del terreno superficial cubierto por vegetación natural (especialmente gramínea).

La estructura del talud de tierra donde se encontraba el nido estaba compuesta principalmente por piedras pequeñas y tierra negra húmeda, proporcionando soporte a la cavidad. La entrada del nido era de forma oval y se dirigía hacia el Oeste (Fig. 65 a y b). El canal de entrada medía 16 cm de profundidad hasta llegar a la cavidad del nido, siendo la longitud total desde la entrada hasta el final de la cavidad de unos 31 cm (Fig. 65 c). La cavidad, era plana en la parte inferior, con depresiones hacia los laterales (Fig. 66 a-b). El nido contaba con tres niveles ascendentes aumentando en superficie hacia arriba, de forma semicircular. Se encontraba ligeramente inclinado, lo que resultó en un borde más elevado que el otro dando una forma casi triangular a la vista de frente, de menor superficie en la parte baja y mayor en la parte superior, similar a una pirámide trunca invertida. Con respecto al nido (Fig. 67 a), se notó que una parte era aérea, sin ser sostenida por una base. (Fig. 67 b). Estaba construido sobre una base de piedras que constituía la zona de desechos, “cámara de defecación”, en la cual se pudo observar una mezcla de materia vegetal en descomposición, detritos, polen, restos de cuerpos de abejas y otros insectos sin definir (Fig. 67 b). Esta mezcla, con una consistencia arcillosa al tacto, presentaba un color verde seco y exhibía un alto grado de humedad con un olor dulzón característico del polen húmedo acumulado y en descomposición. Una sección de la superficie del nido se encontraba cubierto por una lámina de cera, estructura conocida como involucro. El material asociado a la estructura del involucro era de naturaleza

vegetal muerta y seca, como pastos y tallos de estructura hueca (Fig. 67 a). El involucro nacía de los costados hacia la parte superior, sin cubrir enteramente la estructura central, colonizado por hongos de apariencia mohosa de colores verde y blanco en la zona inferior y limpio en la zona superior, junto con algunas ex celdas de pupas que también presentaban esta apariencia (Fig. 67 c). La parte superficial del nido se encontraba menos húmeda que los niveles inferiores, detalle percibido no sólo por el sentido del tacto sino también por el extenso micelio que colonizaba el nivel inferior que, a su vez, se encontraba en contacto con la zona de desechos.

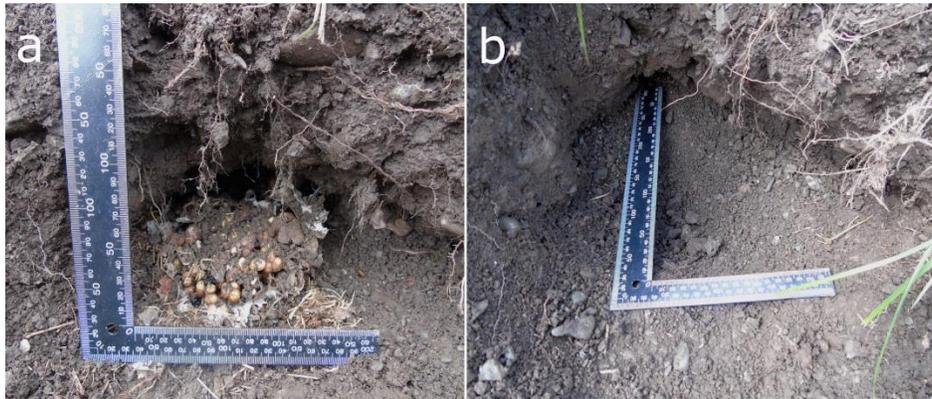
En cuanto a las celdas, en el nivel más superficial, el nido estaba constituido por 16 celdas de inicio, tres celdas larvales, 11 pupas y dos pupas ya eclosionadas (Tabla 33). Respecto al número de individuos, se constató la ausencia de la reina y se encontraron 87 obreras, 10 machos muertos y 2 aún vivos (Tabla 34), lo que sugeriría una población de más de 100 individuos en la colmena en el momento de la extracción del nido. No presentaba reservas de polen o néctar, así como tampoco se pudo constatar la presencia de bolsillos de alimentación.



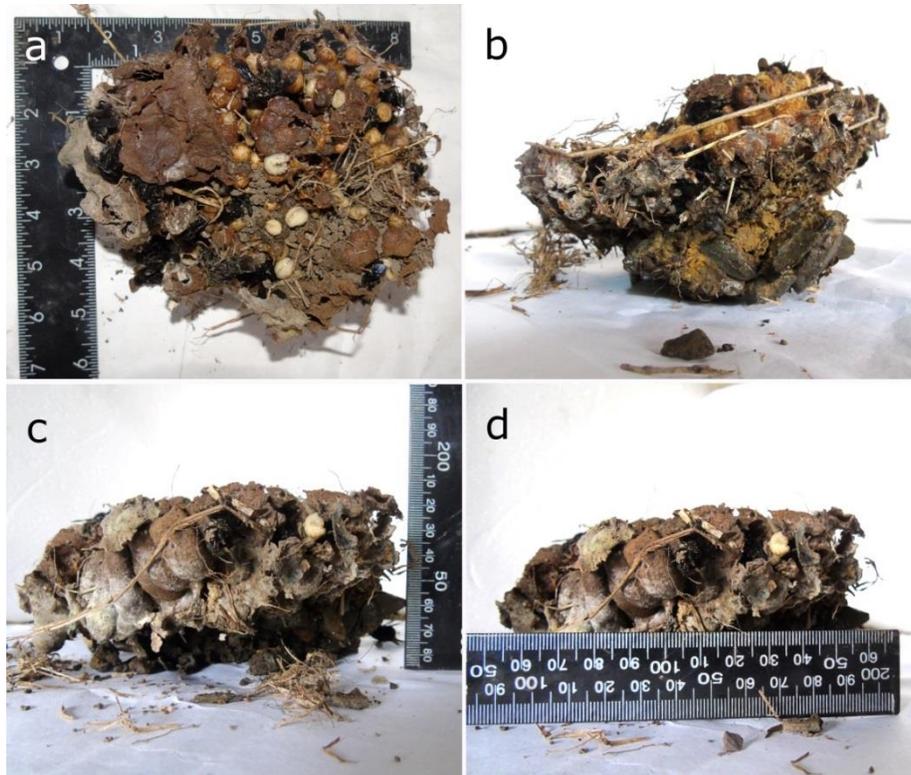
**Figura 64:** Ubicación del nido. (a) ubicación del nido con vista al Este, en pared de zanjón con envase plástico colocado en su entrada para mantener el veneno inyectado en el interior. (b) vista al oeste. (c) vista al Norte. (d) vista al Sur.



**Figura 65:** Detalle de la entrada al nido. (a) altura desde la entrada del nido hacia la superficie del terreno. (b) altura de la entrada al nido. (c) largo del canal hasta el final de la cavidad donde se encontraba el nido.



**Figura 66:** Dimensión del nido en la cavidad y de la cavidad donde se encontraba el nido. (a) alto y ancho del nido en la cavidad. (b) vista de la cavidad donde se encontraba el nido.



**Figura 67:** Nido extraído. (a) vista superior de nido, se observan algunas obreras, larvas sueltas y pupas sin nacer, así como pastos y material vegetal seco incorporado en la estructura y en la parte superior izquierda se aprecia una sección cubierta por involucro. (b) vista lateral donde se observa la mezcla de piedras y detritos en la base (cámara de defecue) y la estructura de pirámide trunca invertida. (c) vista de la parte inferior del nido separado de la cámara de defecue exhibiendo las celdas pupales ya emergidas e involucro (ambos colonizados por hongos) y altura del nido. (d) ancho del nido.

### **Nido D; Abril - 2019**

El segundo nido extraído se encontraba al inicio de un cultivo de durazno, predio experimental de la Escuela de Agricultura y Sacarotécnia (EAS, UNT). Ubicado a unos 35 metros de la ruta, en una elevación del terreno (un montículo de tierra cubierto de gramíneas), pero separado del primer árbol del cultivo por lo que carecía de sombra (Fig. 68 a-d). Hacia el noreste se encontraba la EAS, al sur un campo de caña, al oeste el cerro San Javier y la residencia universitaria. La entrada del nido (Fig. 69 a y b) estaba orientada hacia el oeste y consistía en un canal (Fig. 69 c) que llevaba hasta la parte superficial del nido. El nido contaba con dos niveles, siendo el inferior deteriorado y colonizado por un hongo de color amarillo con aspecto pulverulento, construido sobre piedras y tierra compacta. El segundo nivel, más superficial, contenía varios grupos de celdas, aunque en una cantidad considerablemente menor que el nido anteriormente descrito y en un avanzado estado de degradación (Fig. 70 a-c). La cavidad que

albergaba el nido estaba conformada por tierra negra compacta en los bordes y suelta en la base y también se hallaron pequeñas piedras (Fig. 71 a-c). Desde la base de la cavidad hasta el ras del suelo la altura era de unos 16 cm en total.

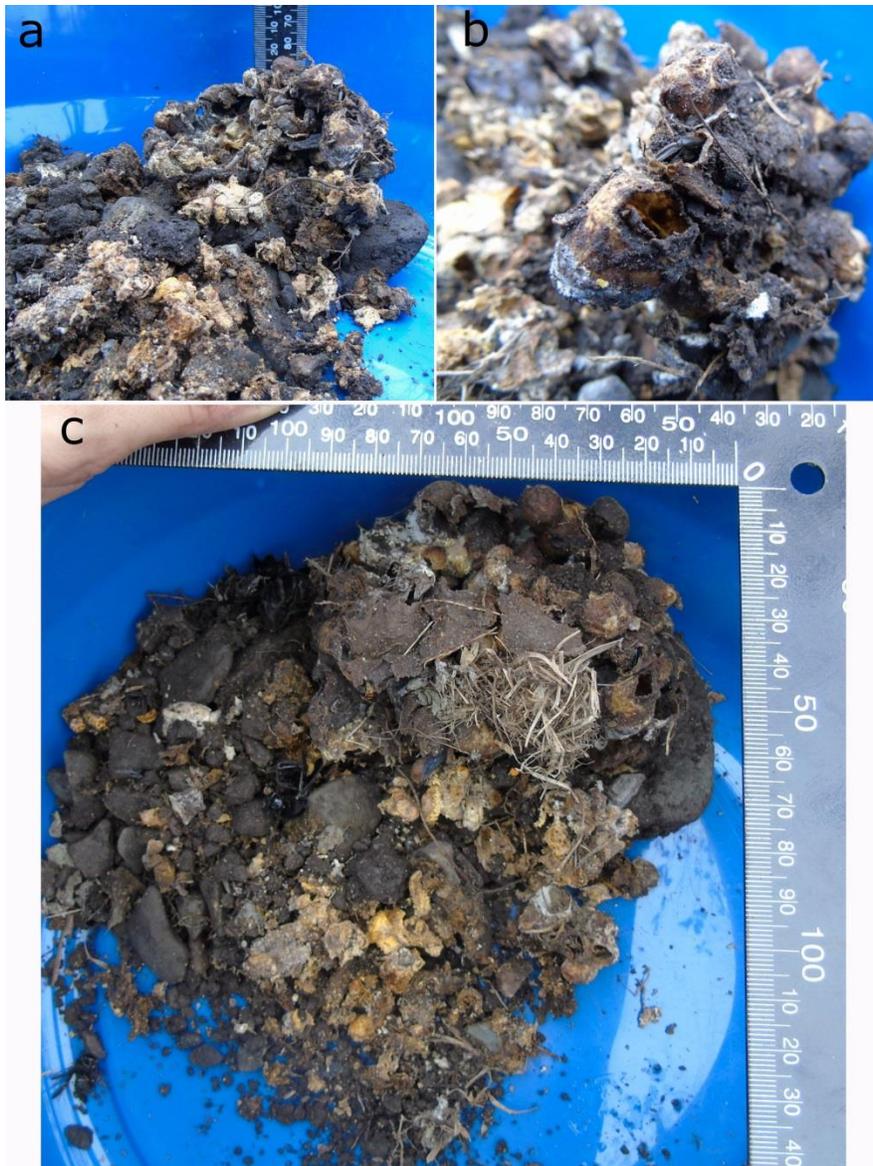
A pesar de que se observó actividad de pecoreo antes de la extracción del nido, los únicos habitantes colectados en el interior fueron 3 reinas y 5 obreras (Tabla 33 y 34), sin rastros de reservas (de hecho, al acercarse para recoger el nido, se encontraron 3 obreras dando vueltas buscando la entrada cubierta por el envase plástico).



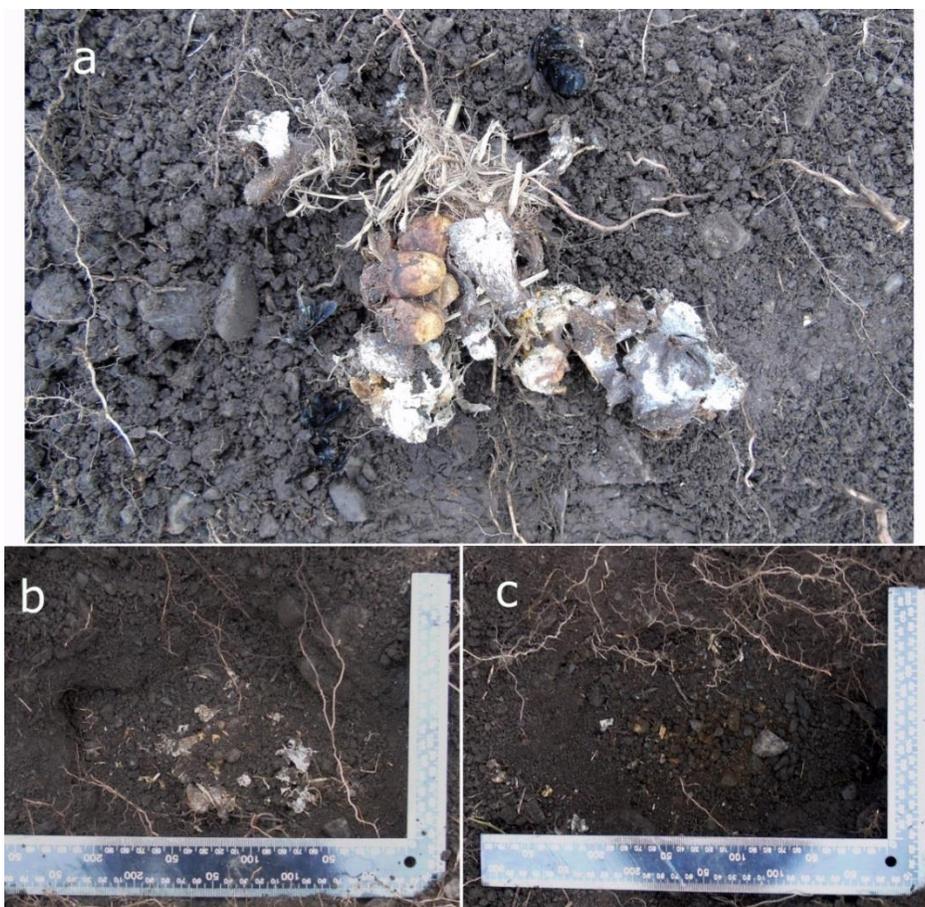
**Figura 68:** Ubicación del nido. (a) vista hacia el Norte. (b) vista al Sur y entrada del nido tapada por el envase plástico que proporcionó contención al veneno. (c) vista al Este. (d) vista al Oeste.



**Figura 69:** Nido despejado y entrada. (a) superficie del nido despejada. (b) entrada al nido. (c) canal de entrada, medida de profundidad.



**Figura 70:** Vista del nido extraído en detalle. (a) altura del nido. (b) vista de la base constituida por antiguas ex celdas de pupas colonizadas por hongos. (c) vista superior del nido y medidas.



**Figura 71:** Nido sin extraer y cavidad. (a) nido despejado. (b) medidas del nido en cavidad. (c) medidas de la cavidad despejada.

### **Nido E; Enero - 2020**

En enero de 2020 se identificó un nido situado en la pared este de un canal de desagüe con orientación norte-sur, a unos 40 cm de la superficie, en la Estación Experimental Agropecuaria INTA Famaillá [(Fig. 72 a-d) y (Fig. 73 a y b)]. Debido a una intensa lluvia, el nivel de agua aumentó, inundando el nido y causando su muerte. La entrada tenía forma redondeada (Fig. 73 c) y consistía en un túnel (orientado hacia el sur) de unos 52 cm de longitud en línea recta y una pendiente de unos 28,5 cm hacia el nido (Fig. 73 d). El diámetro del canal de entrada no pudo medirse ya que se desmoronaba a medida que se avanzaba hacia el nido. En el momento de la extracción, se observó que la forma del nido era redonda con una tendencia ovalada, se encontraba muy mojado y blando, con la estructura principal desarmada y la superficie colonizada por un moho de coloración verde claro (Fig. 74 a y c). Aunque se vieron algunos ejemplares de obreras en la periferia del nido abandonado, no se detectó su presencia dentro del nido ni tampoco la reina (Tabla 33 y 34). Se pudieron definir al menos tres niveles. El más inferior se

encontraba en un avanzado estado de degradación lo que hizo imposible su medición. La cavidad donde se alojaba el nido estaba formada casi exclusivamente por tierra negra compacta (Fig. 74 b).

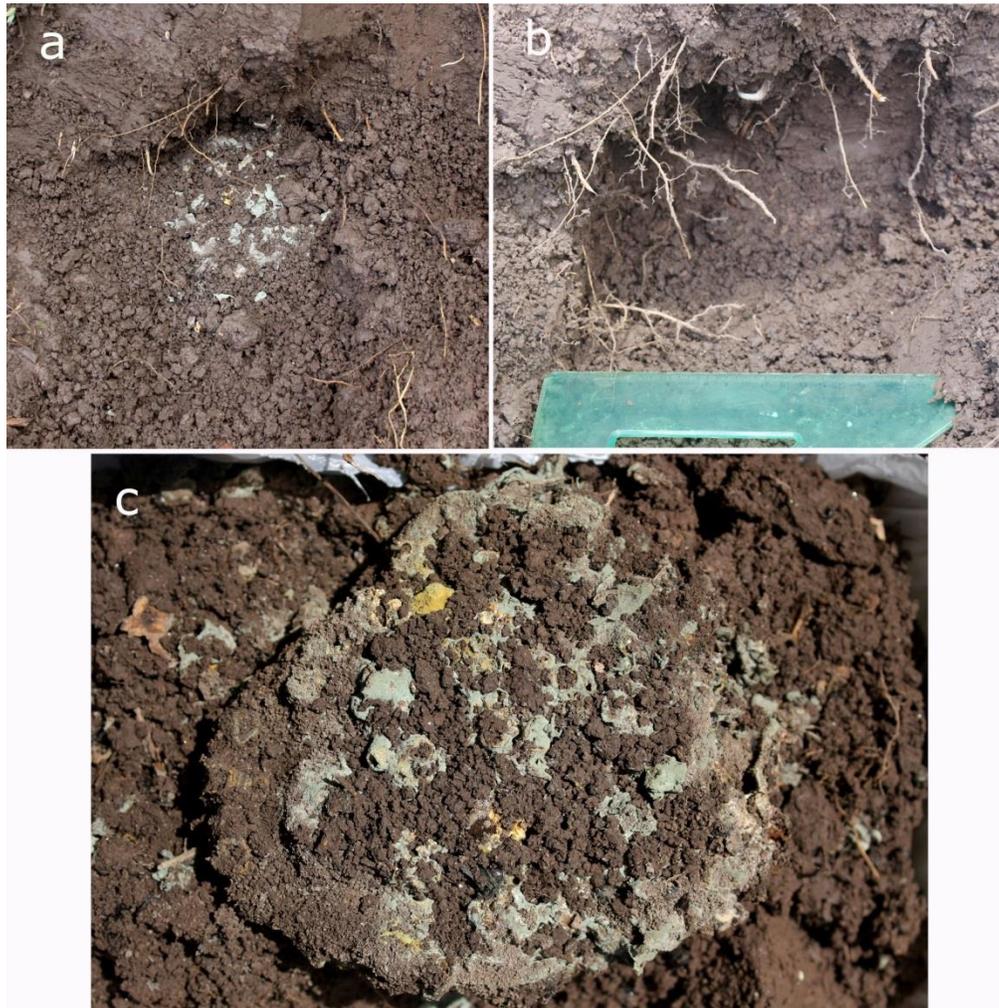


**Figura 72:** Ubicación del nido. (a) vista al Oeste. (b) vista al Este. (c) vista al Norte. (d) vista al Sur.



**Figura 73:** Nido, entrada y canal. (a) ubicación del nido en pared de canal de desagüe. (b) vista lateral del nido

excavado en pared de canal de desagüe. (c) entrada al canal que lleva al nido. (d) canal de entrada al nido.



**Figura 74:** Vista del nido despejado y de cavidad donde se alojaba el nido. (a) vista del nido en cavidad. (b) vista de la cavidad donde se alojaba el nido. (c) vista del nido extraído.

#### **Nido F; Febrero - 2020**

El nido se encontraba en la banquina este de un camino interno del barrio Horco Molle, a 60 cm de la calle y 70 cm de un canal (Fig. 75 a-c). Esta banquina se sitúa entre la calle propiamente dicha y un canal de encauce de agua por el cual también se arrastra basura proveniente de las casas cercanas, insertas en una zona de reserva con un alto impacto antrópico, debido al asentamiento humano permanente y al uso para actividades recreativas y deportivas. Aunque hay esfuerzos por mantener limpia la zona el material plástico disperso y particulado queda atrapado entre la vegetación nativa que crece libre en el sector. Se constató que la muerte del nido había ocurrido aparentemente por inundación ya que la

cobertura estaba mojada y presentaba agua en su interior.

La superficie ocupada por el mismo presentaba una forma oval. El material de cobertura con cerca de 1,5 cm de altura, estaba compuesto por material vegetal troceado, como ramitas finas, pequeñas y huecas, hierbas largas y angostas como pasto, y también hojas secas. Este conjunto formaba una capa sin un orden específico contrastando con la apariencia general del suelo compuesto por tierra compacta y húmeda, con pequeñas piedras insertas y a su alrededor se encontraron lombrices y caracoles muertos seguramente como resultado del efecto del insecticida utilizado (Fig.76 a). El nido carecía de una entrada definida.

Al despejar la cobertura, se observó que el nido se encontraba junto a una piedra, que ocupaba aproximadamente la mitad del ancho de la cavidad, de modo que ambos se encontraban insertos en la misma y cubiertos por el mismo material de cobertura (Fig. 76 b). Esto producía que la apariencia superficial del nido fuera la de un nido de mayores dimensiones. Además, el nido se dividía en 2 secciones: la sección de desechos, “cámara de defecue”, en la parte inferior, donde se acumulaban detritos, ex celdas, restos de abejas, piedras y también trozos de plásticos, y la “cámara de cría” donde se podían observar pupas (Tabla 33), celdas de cría, puparios vacíos y vasos de alimentación.). Se registraron 65 obreras (Tabla 34), sumando las que se encontraban en el exterior y el interior del nido. A primera vista, se apreciaron dos celdas de reserva de polen llenas hasta la mitad del volumen y 5 vasos de jarabes (ex celdas pupales recicladas) llenos de agua de lluvia de la noche anterior y la mañana previa a la intervención. Los dos bolsillos observados podían ser confundidos con potes de polen debido a su gran tamaño, pero presentaban celdas de inicio sobre alguna de las paredes laterales hacia el margen superior y su tamaño triplicaba el tamaño de las celdas. En uno se hallaron tres celdas consecutivas y en el otro una. A su vez estas celdas se ubicaban sobre un estrato de pupas sin eclosionar, separadas en subgrupos que permanecían en contacto en los puntos más exteriores. La disposición de los grupos de pupas adoptaba una forma de anillo, estos grupos se unían en la periferia dejando un hueco al medio.

Al retirar el nido, se observó que presentaba un involucro en los límites externos, sin que llegara a cubrir la superficie del mismo. En este involucro, y pegado a las celdas, había restos de materiales no vegetales como los presentes en las inmediaciones donde se construyó el nido. Estos materiales incluían plásticos tanto duros como blandos con varias morfologías diferentes, recortados en los bordes pero sin separarse del todo de una estructura más grande; algunos de grosor fino como el de una bolsa camiseta, otros pedazos más gruesos como de bolsa de alimento de mascota e hilados de bolsa de arpillera [(Fig. 77 a-c) y Fig. 78 a, c y d)]. Estos elementos estaban colocados deliberadamente a modo de inicio del involucro en la periferia del nido. La sección de desechos (Fig. 78 b), presentaba medidas de 8 cm de

largo por 7 de ancho y una altura de 5 cm.



**Figura 75:** Ubicación del nido. (a) vista al Sur desde el nido y el mismo tapado por el envase plástico que impide la salida del insecticida utilizado. (b) vista de los residuos en la periferia del nido. (c) vista del canal paralelo al nido hacia el Este.

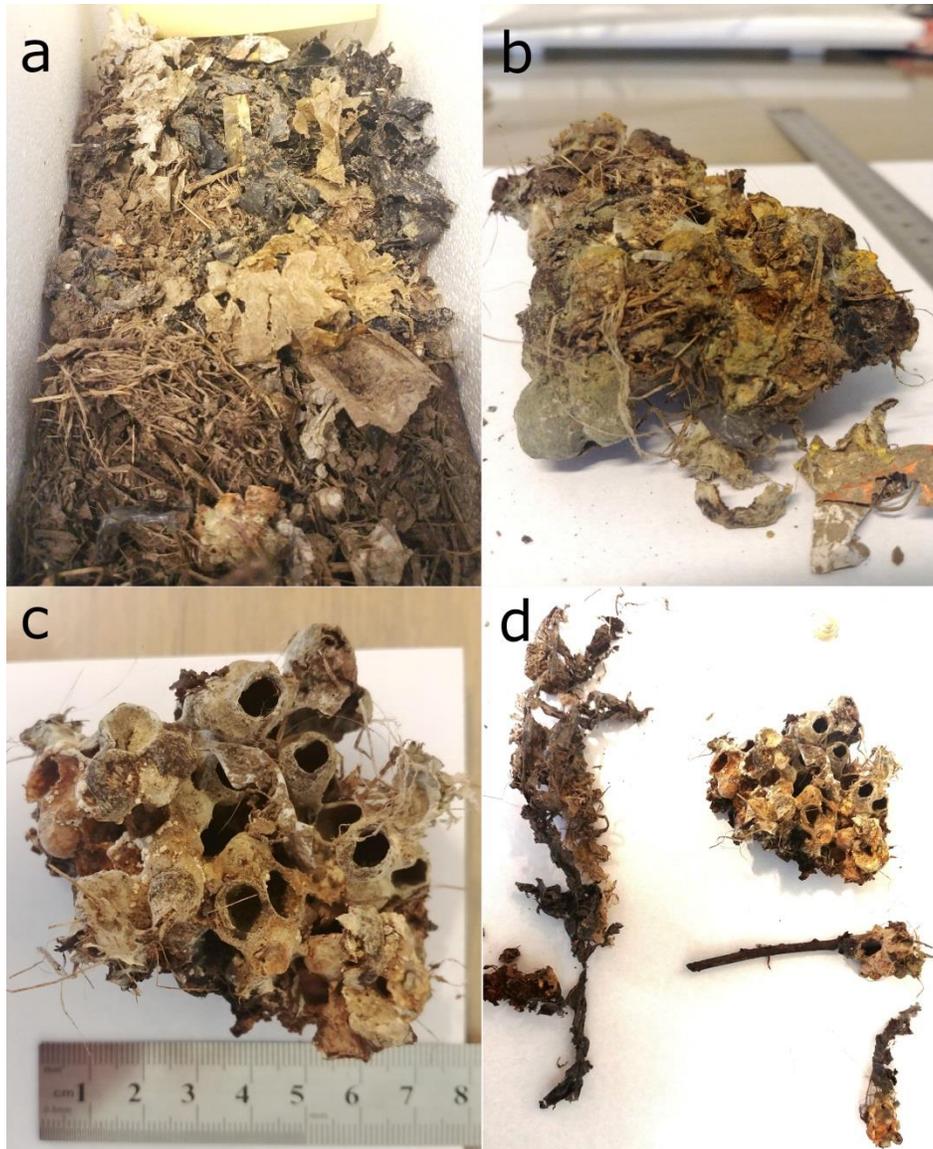


**Figura 76:** Cobertura del nido, medidas y nido. (a) vista de la cobertura del nido y sus medidas. (b) medidas del

nido despejado de su cobertura.



**Figura 77:** Plásticos incorporados al nido. (a) detalle de plásticos incorporados al involucro de la periferia del nido en el margen superior. (b) detalle de los plásticos incorporados al nido en el margen izquierdo. (c) detalle de los plásticos incorporados al nido en el margen inferior.



**Figura 78:** Detalles de la constitución del nido. (a) vista de los materiales naturales (hojas, pastos finos, ramas y piedras pequeñas) y artificiales, plásticos blandos, presentes en la cavidad y alrededor del nido. (b) parte inferior del nido, cámara de defecación con piedras asociadas. (c) parte superior del nido con ex pupas y materiales artificiales y naturales pegados. (d) restos de materiales artificiales (plásticos blandos) y naturales extraídos del nido.

### ***Descripción de nidos encontrados en domicilios particulares***

#### **Nidos G y H; Febrero - 2021**

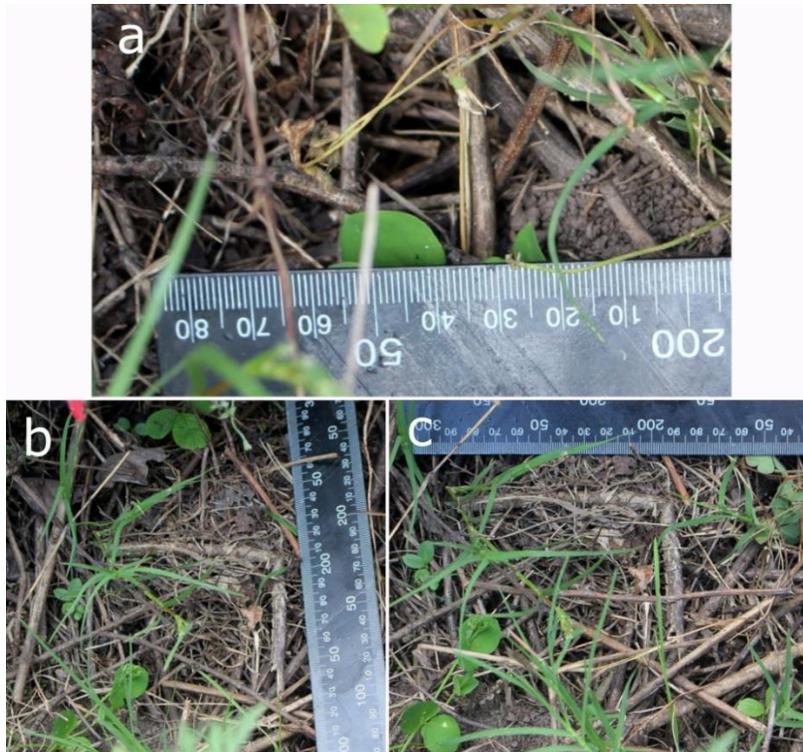
Dos nidos fueron encontrados en un domicilio particular de la ciudad de Tafí Viejo al pie oriental del cerro Taficillo (26°44'S 65°17'O), uno fue removido para el estudio de su arquitectura (G) y al otro se

describió de forma superficial y se le colocó un data-logger (Nido H: será descrito más adelante). Ambos se encontraban en un campo de cultivo de palta Hass, sin explotación comercial, organizado en pasillos paralelos de oeste a este.

#### *Descripción de nido removido (G)*

Este nido se encontraba bajo un árbol de palta Hass. La entrada del nido estaba orientada al Oeste y conectaba directamente con el nido de manera superficial (Fig. 79 a). La parte superficial del nido se encontraba al nivel del suelo, extendiéndose hacia abajo y se hallaba cubierto por una capa superficial de pasto cortado y hojas secas de tamaño uniforme, dispuestas en capas superpuestas, generando un montón redondeado más abultado en el centro (Fig. 79 b y c). Una vez despejada la cobertura pudo observarse que su forma, en el terreno, era redondeada (Fig. 80 a-c). Al abrirlo, una vez muerto, las medidas del mismo fueron de 4 cm de ancho por 9.5 cm de largo y 7 cm de alto (Fig. 81 a y b) y presentaba una forma ovalada. Se observó un ordenamiento en forma circular imperfecto, con involucro en los bordes que presentaba crecimiento de micelio en su superficie. La cera era oscura, y, a simple vista, se detectaron celdas de pupas reales y de obreras vacías (Tabla 33). De hecho, al abrirlo, se encontró una nueva reina. Presentaba tres niveles de cría superpuestos.

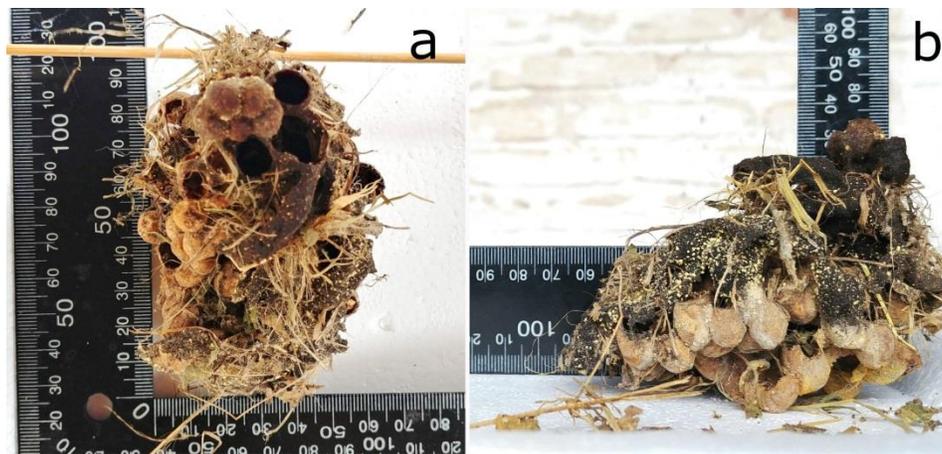
La cavidad donde se ubicaba el nido se encontraba formada por tierra suelta por lo que no pudo ser medida con exactitud pero resultó ser de dimensiones muy próximas a las dimensiones del nido y de no más de 7 cm de profundidad.



**Figura 79:** entrada y superficie del nido. (a) medida y vista de la entrada al nido. (b) ancho de la sección ocupada por la cobertura del nido. (c) largo de la sección de la cobertura.



**Figura 80:** Nido despejado. (a) medida del largo del nido despejado de su cobertura. (b) medida del ancho del nido en la cavidad. (c) medida de la profundidad del nido.



**Figura 81:** Vista del nido muerto ubicado en la caja. (a) vista superior del nido y medida del ancho y largo. (b) vista de la altura del nido, que, se encuentra invertido debido al desnivel que presentaba.

### **Nido J; Marzo - 2021**

El nido fue descubierto en el jardín de un domicilio particular en el barrio El Bosque, en la ciudad de San Miguel de Tucumán (Fig. 82 a-c). Estaba ubicado debajo de un cúmulo de ramas, orientando la parte más larga en dirección este-oeste y la parte más corta en dirección norte-sur, en una cavidad. Se encontraba cubierto de hojas semisecas, pastos cortados, pedazos de ramitas y troncos blandos semi descompuestos y no presentaba una entrada definida (Fig. 83 a-c). La familia propietaria del inmueble informó que dejó el cúmulo de ramas en septiembre del 2020 y descubrieron el nido al abrir la casa nuevamente en marzo del 2021, es decir que el nido tenía aproximadamente seis meses y fue retirado luego de una semana de intensas lluvias. Al ser extraído se observaron dos reinas recién nacidas, alrededor de 15 obreras y al menos cinco pupas reales, sin constatar la presencia de machos en el mismo.

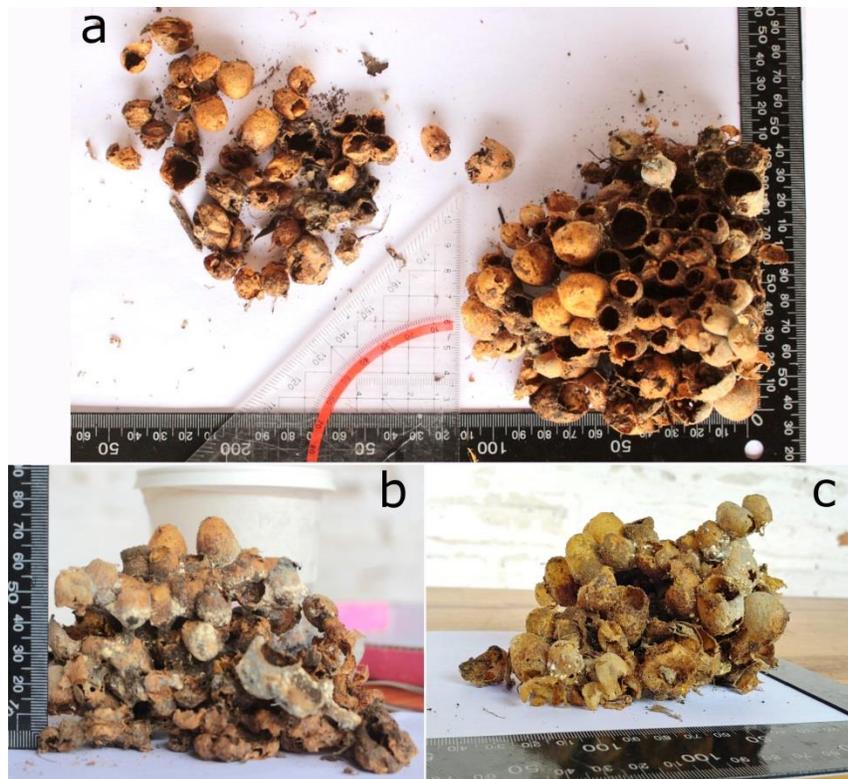
Una vez muerto, se pudo observar que todas las pupas habían nacido y en el interior había una reina oscura, una obrera y tres machos también oscuros. Debido a que durante la extracción no se habían observado machos, se presumió que estos emergieron en la nueva locación. En el nivel superior se encontraban las celdas reales y las de zánganos (Fig. 84 a-c, Tabla 33), mientras que en el nivel inferior sólo se encontraban las bases de celdas de obreras disgregadas lo que imposibilitó su medición precisa. En la base del terreno del cual fue extraído, sólo se encontró tierra en pequeña cantidad, adherida únicamente a la base de las celdas iniciales.



**Figura 82:** Ubicación del nido dentro del domicilio. (a) vista hacia el norte y frente de la casa. (b) vista hacia el sur y parte trasera. (c) vista superficial del nido.



**Figura 83:** Vista del nido en la cavidad. (a) vista de las dimensiones de la cubierta sin despejar. (b) profundidad de la cavidad. (c) dimensiones del nido en la superficie de la cavidad con la cubierta despejada.



**Figura 84:** Nido extraído y muerto. (a) medidas del nido, vista superior. (b) altura del nido. (c) ancho del nido.

### **Nido K; Diciembre - 2021**

El nido se encontraba ubicado en una residencia que, además, funcionaba como vivero. Este vivero producía plantines alimenticios y ornamentales, además de servir como sede para el dictado de capacitaciones sobre el armado de huertas urbanas agroecológicas. Estaba en un bordo construido con pasto cortado, hojas y ramas, alimentado regularmente con detritos vegetales del terreno.

Su orientación, hacia el oeste y paralelo al cerco perimetral, colindaba con la vereda y la calle pública, mientras que hacia el este y norte limitaba con las huertas demostrativas y otros cultivos, tales como berenjenas, pimientos, tomates Cherry y peritas, tomate árbol o chilito, lechugas, repollos, diversas hierbas aromáticas y plantas ornamentales. Al sur, limitaba con la entrada al terreno donde se ubica la casa (Fig. 85).

El nido se encontraba a 140 cm en línea recta de una plantación de 6 plantas de tomate árbol y diagonalmente a unos 300 cm de una huerta demostrativa, en una cavidad formada por una rama colocada paralela al cerco. Contaba con una cobertura superficial (Fig. 86 a y b) formada por palitos pequeños y delgados, hojas secas y pasto seco, formando casi un óvalo que cubría las inmediaciones del nido. Poseía una entrada circular de unos 3 cm de diámetro (Fig. 87 b).

Las obreras presentaron un comportamiento defensivo muy marcado. Al abrir el nido (Fig. 87 a), se revelaron detalles como la presencia de celdas larvales, pupas y celdas pupales recicladas llenas de néctar. Tras la observación, se procedió a trasladar el nido a una caja de poliestireno expandido con una abertura circular superior que permitía la entrada y salida de individuos (Fig. 88 a y b).

La adaptación fue exitosa, confirmada por la observación de entrada y salida de obreras y vigilantes en la entrada a las 48 horas. Aproximadamente a los 15 días, se observó la acumulación de especímenes (14 obreras a simple vista) en el lugar donde naturalmente la reina había iniciado el nido (Fig. 89 a). Al abrir la colmena de poliestireno expandido, se comprobó una reducción del tamaño original de la colonia aproximadamente a la mitad, la ausencia de la reina y de reservas y la presencia de ocho obreras (Fig. 89 b-d), por lo que se volvió a colocar en su ubicación original. Al cabo de unos días, luego de una tormenta se comprobó el vuelco del recipiente y la ausencia de especímenes.



**Figura 85:** Vista panorámica de la ubicación del nido en el terreno.



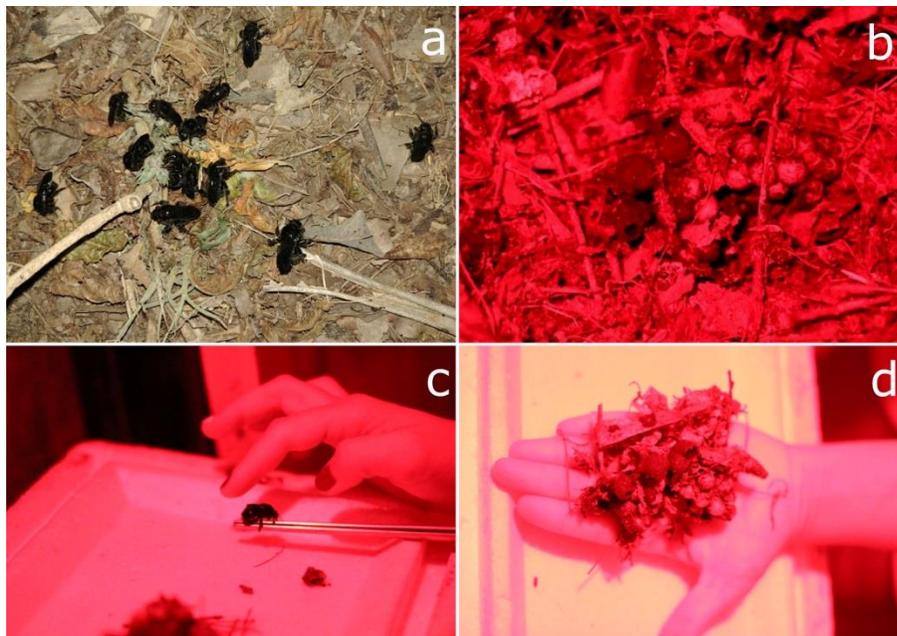
**Figura 86:** (a) vista superior del nido y su cobertura. (b) vista altura del nido y la cobertura en el borde.



**Figura 87:** Nido y entrada. (a) nido descubierto con obreras protegiendo la superficie, al menos 50 obreras fueron observadas. (b) entrada al nido, orientada al Oeste, de forma circular aproximadamente 3cm de ancho por 3cm de alto.



**Figura 88:** (a) remoción del nido con ayuda de una pala. (b) instalación del conjunto en el mismo lugar donde se hallaba la colmena natural y obrera ingresando al nuevo conjunto 48hs después de ser trasladado.



**Figura 89:** (a) reagrupación de obreras en la ubicación del nido natural. (b) apertura de nido en colmena de

contención. (c) extracción de obreras para conteo y trabajo sobre nido. (d) vista de lo que quedaba del nido;  
dimensiones: 7 cm ancho por 8 cm de largo.

**Tabla 32: Descripción de nidos naturales extraídos.** Se compilan en tabla los datos sobre la clasificación del sitio de nidificación, dimensiones, (largo x ancho x alto en cm), y constitución de la cobertura. Las dimensiones (largo x ancho x alto en cm), orientación y canal de la entrada. Dimensión máxima (largo x ancho x alto en cm), volumen (cm<sup>3</sup>) del nido, presencia o ausencia de involucro y reservas del nido. Dimensiones de la cavidad (alto x ancho x largo en cm). (\*) Según Moure y Sakagami (1962).

N i d o	Clasificación del sitio de nidificación (*)	Cubierta superficial		Entrada			Dimensión interna del nido		Involucro	Reservas	Dimensión de la cavidad (largo x ancho x largo /cm)	
		Dimensión (largo x ancho x alto / cm)	Material de construcción	Forma	Largo x alto (cm)	Orientación	Canal (longitud/ cm)	Máxima (largo x ancho x alto/ cm)				Volumen (cm <sup>3</sup> )
		<b>C</b>	Exclusivamente subterráneo	-	-	oval	3 x 2	Oeste				16
<b>D</b>	Exclusivamente subterráneo	-	-	oval	2 x 3,5	Oeste	6,5	8 x 7 x 8	448	Ausente	No	18 x 13 x 16
<b>E</b>	Exclusivamente subterráneo	-	-	redonda	2	Oeste	80,5	12 x 10 x 5	600	Ausente	No	18 x 12 x 14,5

N	Clasificación del sitio de nidificación (*)	Cubierta superficial		Entrada			Dimensión interna del nido			Involucro	Reservas	Dimensión de la cavidad (largo x ancho x largo /cm)
		Dimensión (largo x ancho x alto / cm)	Material de construcción	Forma	Largo x alto (cm)	Orientación	Canal (longitud/cm)	Máxima (largo x ancho x alto / cm)	Volu-men (cm3)			
G	Predominantemente subterráneo	19 x 21 x 1	Vegetal seco troceado	oval	2,5 x 1,5	Oeste	-	8 x 9 x 7	504	Periférico	no	similar al nido
J	Predominantemente subterráneo	15 x 13 x 8	Vegetal seco troceado, ramas pequeñas y tallos huecos	-	-	-	-	11,9 x 11,1 x 8	1057	Ausente	no	15 x 11 x 8
K	Superficial	25 x 17 x 10	Vegetal seco troceado, ramas pequeñas y tallos huecos	redonda	3	Oeste	-	13 x 15 x 7	1365	no	si	-
F	Predominantemente subterráneo	33 x 25 x 1,5	Vegetal seco troceado, ramas pequeñas y tallos huecos	-	-	-	-	8 x 7 x 4,5	252	Periférico con material artificial asociado	si	13 x 12 x 5

Las medidas de las celdas y adultos de los nidos que pudieron ser separados y medidos se presentan en la tabla 33 y 34 respectivamente.

**Tabla 33: Medida de las celdas de obrera y zángano y de especímenes adultos.** Media del diámetro máximo y mínimo, media del largo máximo y mínimo, el desvío estándar de cada una de las medias, y el número de celdas y adultos (N) obtenidos por colonia analizada.

Colonia	Celdas	Diámetro máx	Diámetro mín	$\bar{X} \pm DS$	N	Largo máx	Largo mín	$\bar{X} \pm DS$	N
C	obrero/zangano	14,58	5,74	$8,8 \pm 1,7$	46	19,34	7,33	$11,6 \pm 2,4$	46
D	real	11,46	9,87	$10,8 \pm 0,54$	6	23,15	10,6	$16,9 \pm 4,03$	6
	obrero	10,12	7,03	$8,7 \pm 0,81$	26	14,05	8,2	$11,8 \pm 1,4$	26
E	obrero	9,95	6,35	$8,22 \pm 0,9$	52	13,65	7,5	$10,94 \pm 1,53$	52
	real	16,8	11,4	$13,4 \pm 2,9$	3	16,4	12,7	$15,1 \pm 2,1$	3
F	obrero	9,1	6,1	$8 \pm 0,7$	25	13,5	8,1	$11,1 \pm 1,5$	25
	obrero/zangano	10	7,5	$8,5 \pm 0,7$	17	17,4	8,2	$11,7 \pm 2,2$	17
G	real	15,87	14,35	$15,12 \pm 0,3$	2	21,83	21	$21,43 \pm 0,6$	2
	obrero	12,16	9,28	$10,7 \pm 1,3$	42	16,71	13,4	$15,72 \pm 0,7$	42
	real	16,6	12,4	$14,7 \pm 1,4$	18	23,5	18,2	$20,7 \pm 1,6$	18
J	obrero	10,5	9,7	$10,1 \pm 0,4$	3	13,4	11,4	$12,8 \pm 1,3$	3
	obrero/zángano	12,4	7,3	$9,9 \pm 1,4$	34	15,9	9,8	$13,2 \pm 1,9$	34

**Tabla 34: Medida especímenes adultos.** Media del ancho máximo y mínimo del mesosoma, media del largo máximo y mínimo, el desvío estándar de cada una de las medias, y el número de celdas y adultos (N) obtenidos por colonia analizada.

Colonia	Adulto	Ancho mesosoma máx	Ancho mesosoma mín	$\bar{X} \pm DS$	N	Largo máx	Largo mín	$\bar{X} \pm DS$	N
C	obrero	12,09	3,4	$6,7 \pm 2,5$	22	15,87	5,61	$10 \pm 2$	22
D	obrero	10,12	7,53	$8,8 \pm 0,61$	12	14,05	10,2	$12,03 \pm 1,2$	12
F	obrero	8,96	4,23	$6,1 \pm 1,2$	26	11,6	7,2	$9,5 \pm 1,2$	26

### **Descripción de los nidos naturales a los que se les colocó data-logger**

La información recabada a partir del estudio superficial de los nidos naturales de *B. pauloensis* a los que se les colocó data-logger, está resumida de modo general en la Tabla 35. A continuación, se realiza una descripción de aspectos particulares observados en los diversos nidos que aportan información relevante a considerar sobre la nidificación de esta especie.

### Nido A; Marzo - 2019

El nido se encontró en un campo de cultivo experimental en la Escuela de Agricultura y Sacarotecnia (EAS) dependiente de la Universidad Nacional de Tucumán (Fig. 90 a y b). Estaba ubicado bajo un limonero seco, rodeado por una enredadera que subía por el árbol tapando gran parte de la visión. Ambos presentaban muy poco follaje vivo pero el nido estaba al reparo de la incidencia del sol de manera directa. Contaba con mucha vegetación en su superficie (Fig. 91 a) lo que dificultaba su observación pero, eventualmente, se pudo observar que la entrada y salida de las obreras ocurría por varios lugares a la vez, aunque también había una entrada más definida y, al parecer, principal, orientada al Oeste (Fig. 91 b). La mayoría de las pecoreadoras salían en dirección Norte y una vez elevadas en el aire cambiaban la dirección del vuelo.

La cavidad donde se encontraba el nido estaba en desnivel con respecto al suelo y se encontraba formada principalmente por tierra negra compacta y muy pocas piedras pequeñas (Fig. 92 a y b).



**Figura 90:** Ubicación del nido. (a) vista de orientación del nido con respecto a los puntos cardinales. (b) vista frontal

de ubicación del nido



**Figura 91:** (a) superficie del nido. (b) entrada principal del nido orientada al Oeste.



**Figura 92:** Extracción del data-logger. (a) vista del data-logger colocado. (b) vista de la cavidad donde se encontraba el nido.

### **Nido B, abril - 2019**

El nido fue encontrado en un desnivel del terreno presente en un lateral de una bajada al río, a 1 m del nivel del suelo (Fig. 93 a-c), bajo un cúmulo de ramas finas (Fig. 94 a). El vuelo de las obreras iniciaba hacia el Noroeste y luego cruzaba el cauce del río en dirección Oeste (Fig. 93 d). Contaba con dos entradas, una superior y otra inferior, ambas orientadas hacia el Noroeste (Fig. 94 b). Las dimensiones del mismo no pudieron ser obtenidas. Al momento de extracción del data-logger, el nido se encontraba muerto y no se hallaron rastros del mismo; además se pudo observar que no se encontraba en una cavidad sino que estaba al nivel del suelo por lo que no había una sección diferenciada que pudiera ser

medida.

En ambos nidos ubicados en la zona de Horco Molle (A y B), diferentes comportamientos pudieron ser observados antes de la colocación del data-logger. Las abejas realizaban cortes con sus mandíbulas de hojas muertas o pastos frescos y los arrastraban por debajo de su cuerpo con la ayuda de sus patas dirigiéndolos hacia la superficie del nido logrando así la cobertura del mismo. También fue posible observar la presencia de “guardias” apostadas en la entrada al nido. Una o dos obreras se disponían en la parte interna de la entrada y no se movían del lugar salvo casos excepcionales en los que salían para permitir la entrada de alguna pecoreadora cargada con polen. Este comportamiento pudo ser observado sin que el nido haya sido perturbado intencionalmente.



Figura 93: (a) ubicación nido. (b) vista superior. (c) vista inferior. (d) ruta de vuelo



**Figura 94:** (a) vista superior del nido. (b) vista de entrada doble: superior e inferior.

### **Nido H, Febrero 2021**

Este nido se halló bajo un árbol de palta Hass, contiguo a un núcleo de *apis* y debajo de los restos de otro núcleo (Fig. 95 a y b). Estaba ubicado al ras del suelo y presentaba una ligera prominencia hacia arriba. Al abrirlo, se observaron algunas celdas de larvas grandes adheridas a la madera del núcleo. Al levantar la madera que cubría y protegía el nido, varias larvas se soltaron debido a que la cera con la que estaba construida su cubierta estaba pegada en el envés de la misma (Fig. 96 a). Este nido carecía de la cubierta generalmente presente en otros nidos naturales, ya que en este caso dicha cobertura estaba proporcionada por la madera del núcleo antes mencionada. Este nido carecía de la cubierta generalmente presente en otros nidos naturales, ya que en este caso dicha cobertura estaba proporcionada por la madera del núcleo antes mencionada. La entrada estaba orientada hacia el sur donde se observaba una vía despejada, de manera similar al norte, mientras que hacia el este y oeste se encontraban filas de árboles paralelas. Las obreras mostraron una respuesta de reactividad intermedia, varias se dedicaron activamente a la defensa, atacando a la observadora, mientras que las otras protegieron el nido posicionándose sobre él.

La instalación del data-logger, (Fig. 96 b), provocó un aumento de la cobertura del nido alrededor del mismo (Fig. 97 a). Esta cobertura consistía en pedazos pequeños de detritos vegetales tales como hojas, pasto, tallos huecos y pequeñas ramas, similar a las coberturas encontradas en nidos anteriores. Además, se pudo constatar la construcción de estructuras de cera, como vasos o celdas de cría, en la superficie y el interior de la clamshell que se utilizó para proteger el data-logger (Fig. 98 a y b).



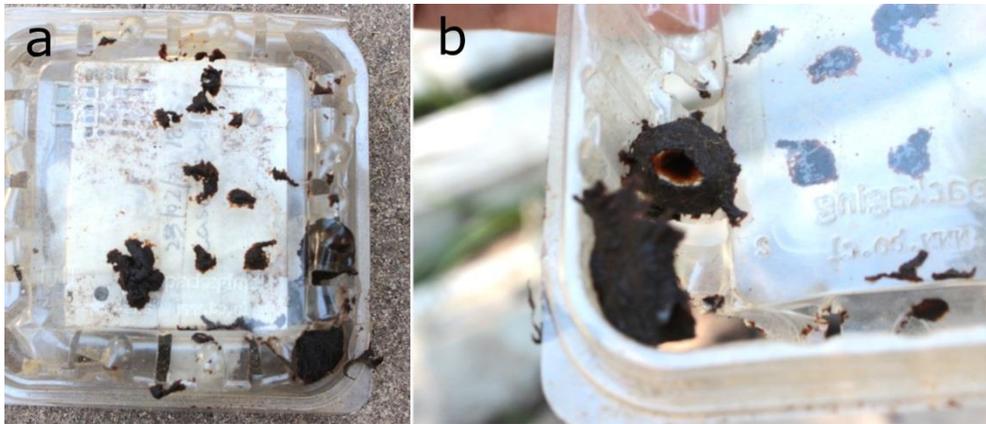
Figura 95: (a) nido vista frontal. (b) vista superior



Figura 96: (a) nido al descubierto, quitando la madera que, originalmente, se encontraba sobre el nido. (b) vista superior del data-logger colocado.



**Figura 97:** Extracción del data-logger. (a) vista de cobertura creada alrededor del data-logger luego de la puesta del mismo y, medidas externas de la capa. (b) vista del nido despejado de la cobertura y medidas externas.



**Figura 98:** Construcciones sobre clamshell. (a) cara de la clamshell en contacto con el nido presentando depósitos de cera. (b) construcción de vaso de jarabe en el interior de la clamshell.

### Nido I, marzo - 2021

El nido fue encontrado en el mismo terreno del domicilio anterior, delante del tronco de un árbol de palta Hass, orientado hacia el Este. No pudo ser verificada la existencia de una entrada principal, las obreras parecían salir en todas direcciones por debajo de la cobertura de palos y demás detritos vegetales secos en el momento en que la observadora se quiso acercar a recabar información sobre su estructura superficial llevando a cabo una activa y marcada defensa del nido, por lo que se procedió a colocar el data-logger de la mejor manera posible y retirarse. Los datos sobre la dimensión del mismo

pudieron ser recabados una vez retirado el data-logger. La cobertura se hallaba al ras del suelo y el nido por debajo, en una cavidad por lo que no sobresalía de la superficie del terreno (Fig.99 a). Presentaba una fina y delgada capa de cera, involucro, solo en un sector lateral del mismo, la cual se encontraba cubierta por un tipo de hongo blanquecino (Fig.99 b), presumiblemente como resultado de las intensas lluvias sufridas días anteriores. Todo el nido se hallaba muerto, húmedo y con agua retenida en lo que parecían haber sido potes de polen o reservorios de jarabe. Se encontraba muy deteriorado y con abejorros muertos que yacían alrededor por lo que se estimó que su muerte había sido reciente aunque el remanente del nido, una vez removido, se desarmaba al tacto y no pudo ser medido.



**Figura 99:** (a) vista del nido deteriorado y colonizado por un hongo de aspecto liso y blanquecino. (b) medidas del nido en el terreno. (c) medida de la profundidad de la cavidad donde se encontraba el nido.

**Tabla 35: Descripción de nidos naturales con data-logger.** Se compilan en tabla los datos sobre la clasificación del sitio de nidificación, dimensiones, (largo x ancho x alto en cm), y constitución de la cobertura. La forma y orientación de la entrada. Dimensión máxima (largo x ancho x alto en cm), y volumen (cm3) del nido, presencia o ausencia de involucro y reservas del nido. Dimensiones de la cavidad (alto x ancho x largo en cm). (\*) Según Moure y Sakagami (1962).

N i d o	Clasificación del sitio de nidificación (*)	Cubierta superficial		Entrada	Dimensión interna del nido			Involucro	Reservas	Dimensión de la cavidad (largo x ancho x largo /cm)
		Dimensión (largo x ancho x alto / cm)	Material de construcción	Forma	Orien- tación	Máxima (largo x ancho x alto/ cm)	Volumen (cm3)			
A	Predominantemente subterráneo	-	-	No definida	Oeste	-	-	Ausente	no	12,5 x 14 x 4
B	Superficial	-	Ramas finas y secas y vegetal troceado seco.	Redonda	Noroeste	-	-	Ausente	no	-
H	Mixto	20 x 25	Vegetal seco particulado, ramas finas y huecas.	No definida	-	14 x 17 x 5	1190	Ausente	no	14 x 17 x 5 (aprox.)
I	Predominantemente subterráneo	13 x 12 x 2	Vegetal troceado y seco, pequeños tallos huecos y ramas cortas.	No definida	-	7 x 5 x 5	175	Periférico	no	7 x 5 x 7 (aprox.)

### Condiciones microambientales de los nidos

Los valores de temperatura interna obtenidos mediante el uso de data-logger se expresan en la tabla 36. En todos los casos se pudo registrar que la media de la temperatura interna del nido fue mayor a la del ambiente, con una diferencia máxima de 7°C, variando entre una mínima de 19°C y una máxima de 28°C. En las gráficas realizadas para cada caso particular se observa la tendencia de una mayor temperatura interna en los nidos, en comparación con la temperatura externa, y sostenida de manera más constante sin muchas fluctuaciones [(Fig. 100 a-c) y (Fig. 101 a y b)].

Con respecto al nido mantenido en semiconfinamiento puede observarse un ascenso aún mayor de la temperatura en el período en que ocurrió la generación de nuevas reinas (ver capítulo 4) para más detalles del período de observación de generación de reinas nuevas).

**Tabla 36: Temperatura dentro de las colonias de abejorros.** Se presenta el registro de la temperatura media dentro de los nidos de abejorros, comparando colonias naturales (n=4) con colonias en semiconfinamiento (n=1), en distintos períodos de registro y ubicaciones. Los parámetros incluyen el número de días de observación, el rango de temperaturas registradas, así como las temperaturas medias del interior del nido y del exterior (aire) en cada caso. La columna "Diferencia" indica la variación entre la temperatura media del nido y la temperatura media del aire.

	Colonias Naturales		Colonia en semiconfinamiento		
	Horco Molle 1	Horco Molle 2	Tafi Viejo 1	Tafi Viejo 2	Famaillá
<b>Período de registro</b>	28/3 al 10/4 2019	10/4 al 4/5 2019	23/2 al 6/3 2021	6/3 al 25/3 2021	1/4 al 14/4 2020
<b>Nº de días de observación</b>	14	25	12	20	14
<b>Rango</b>	18,4 - 30,82	15,8 - 25,8	19,4 - 38,2	22,2 - 31,7	17,9 - 41,8
<b>Temperatura media del nido</b>	22,94 ± 1,8	19,60 ± 1,5	26,63 ± 1,1	27,98 ± 1,8	25,98 ± 4,3
<b>Temperatura media del aire (en casilla)</b>	21,90 ± 2,9	19,56 ± 2,9	24,56 ± 1,6	22,56 ± 3,0	18,83 ± 2,1
<b>Diferencia</b>	1,04 ± 1,8	0,04 ± 2,1	2,07 ± 1,4	5,42 ± 2,0	7,15 ± 4,5

Con respecto a la humedad relativa dentro de los nidos los datos se expresan en la tabla 37. Los valores de las medias obtenidos muestran que la humedad relativa dentro del nido varía entre 70 y 99% HR, con una diferencia máxima del 13%. En los gráficos (Fig. 102 a-c) y (Fig. 103 a y b) puede observarse que la humedad relativa también tiende a ser mayor y sin grandes fluctuaciones dentro de los nidos con respecto al ambiente externo.

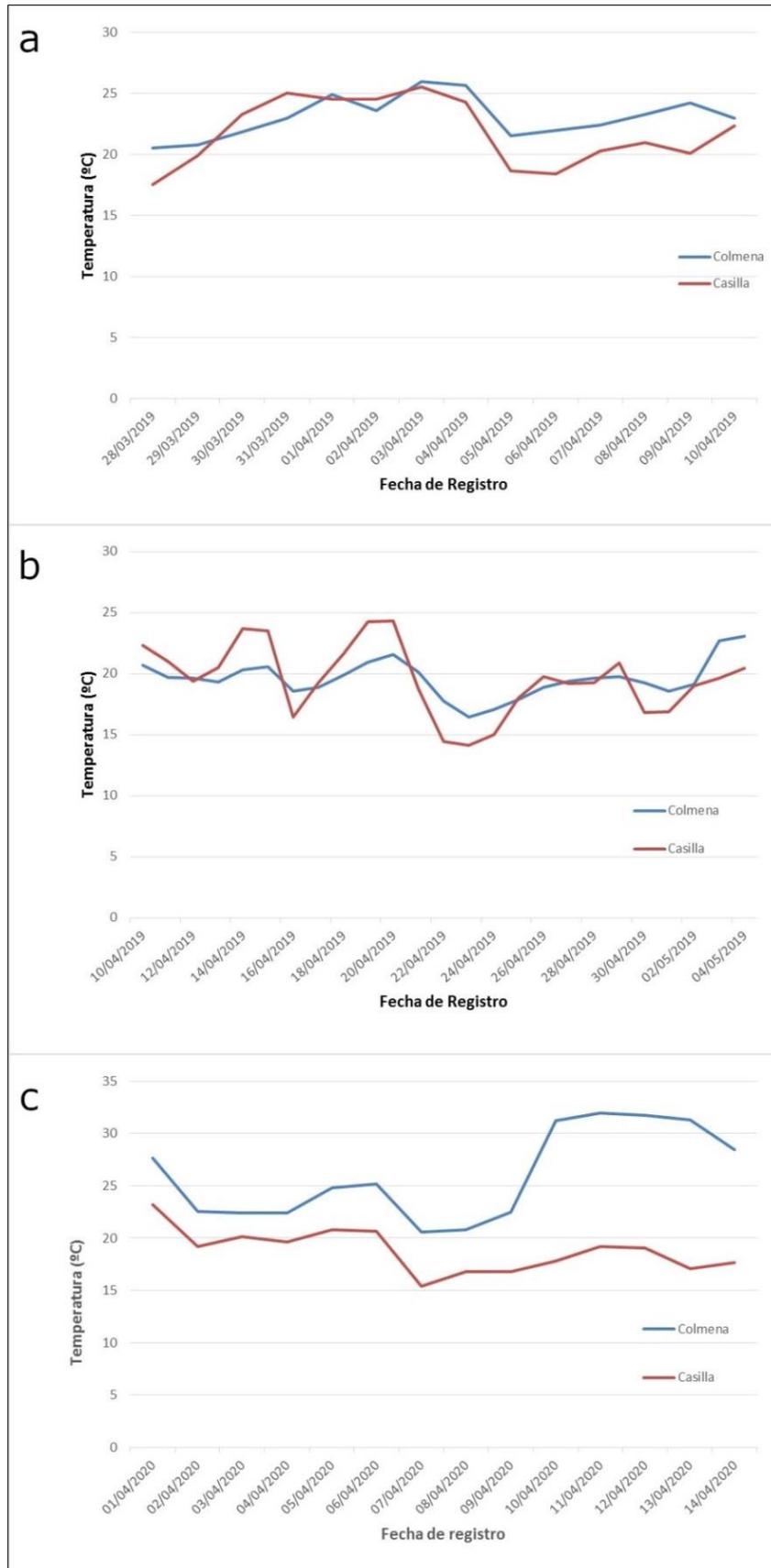
**Tabla 37: Humedad relativa dentro de los nidos de abejorros.** Se comparan colonias naturales (n=4) con una en semiconfinamiento, durante diferentes períodos y ubicaciones. Se incluyen datos sobre el número de días de observación, el rango de humedad registrado para cada caso, y las medias de la humedad relativa tanto en el nido como en el aire circundante. La columna "Diferencia" refleja la variación entre la humedad relativa media del nido y la humedad relativa media del aire en cada caso.

	Colonias Naturales				Colonia en semiconfinamiento
	Horco Molle 1	Horco Molle 2	Tafi Viejo 1	Tafi Viejo 2	Famailá
<b>Período de registro</b>	28/3 al 10/4, 2019	10/4 al 4/5, 2019	23/2 al 6/3, 2021	6/3 al 25/3, 2021	1/4 al 14/4, 2020
<b>nº de días de observación</b>	14	25	12	20	14
<b>Rango</b>	58,8 - 88,2	51,4 - 100	57,5 - 90,4	73,2 - 88,8	34,7 - 100
<b>Humedad Relativa media del nido</b>	73,23 ± 7,9	98,97 ± 2,6	80,13 ± 1,6	82,24 ± 3,2	93,94 ± 3,9
<b>Humedad Relativa media del aire (en</b>	70,00 ± 7,1	80,38 ± 8,5	80,17 ± 5,5	83,00 ± 6,3	81,10 ± 5,6

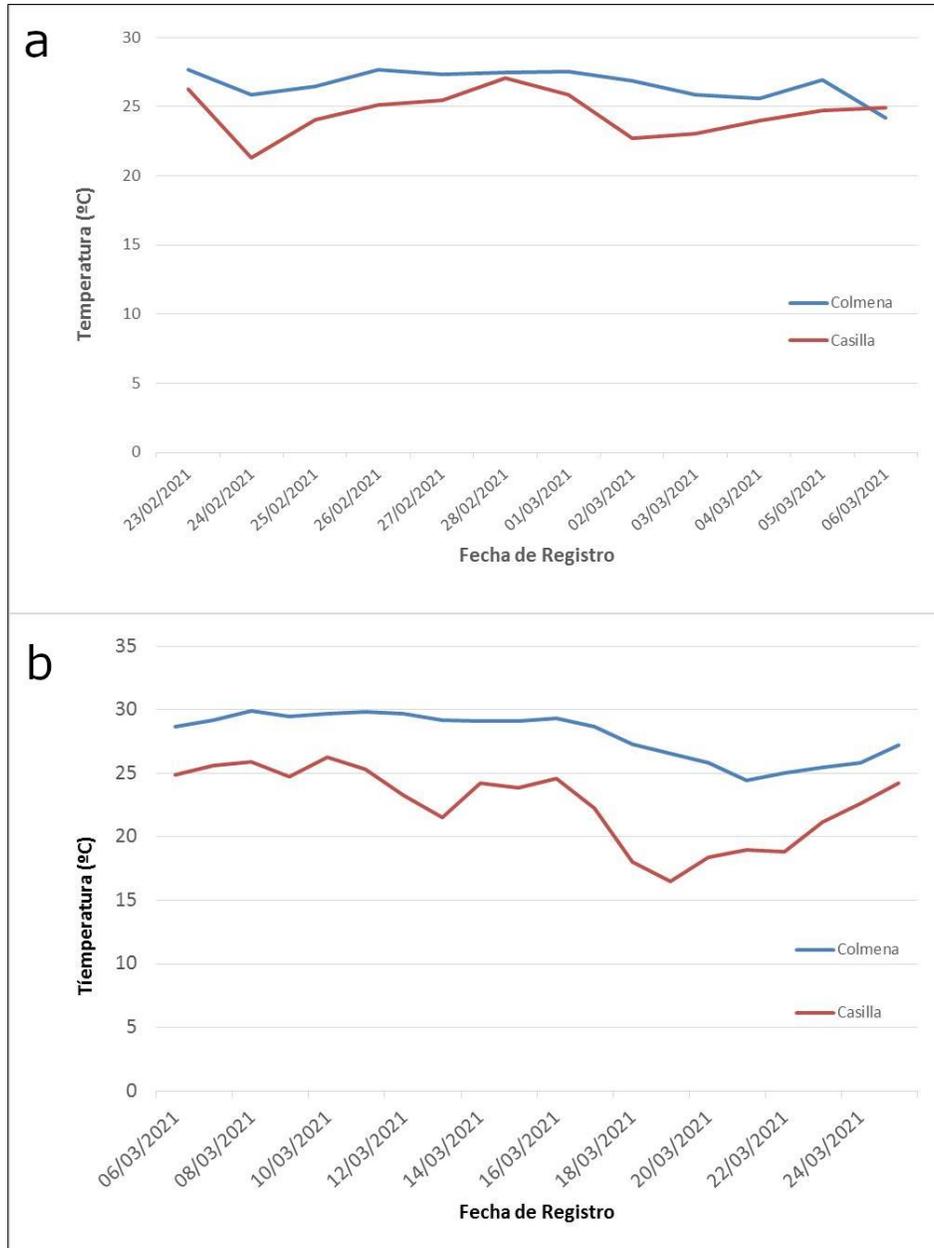
---

casilla)

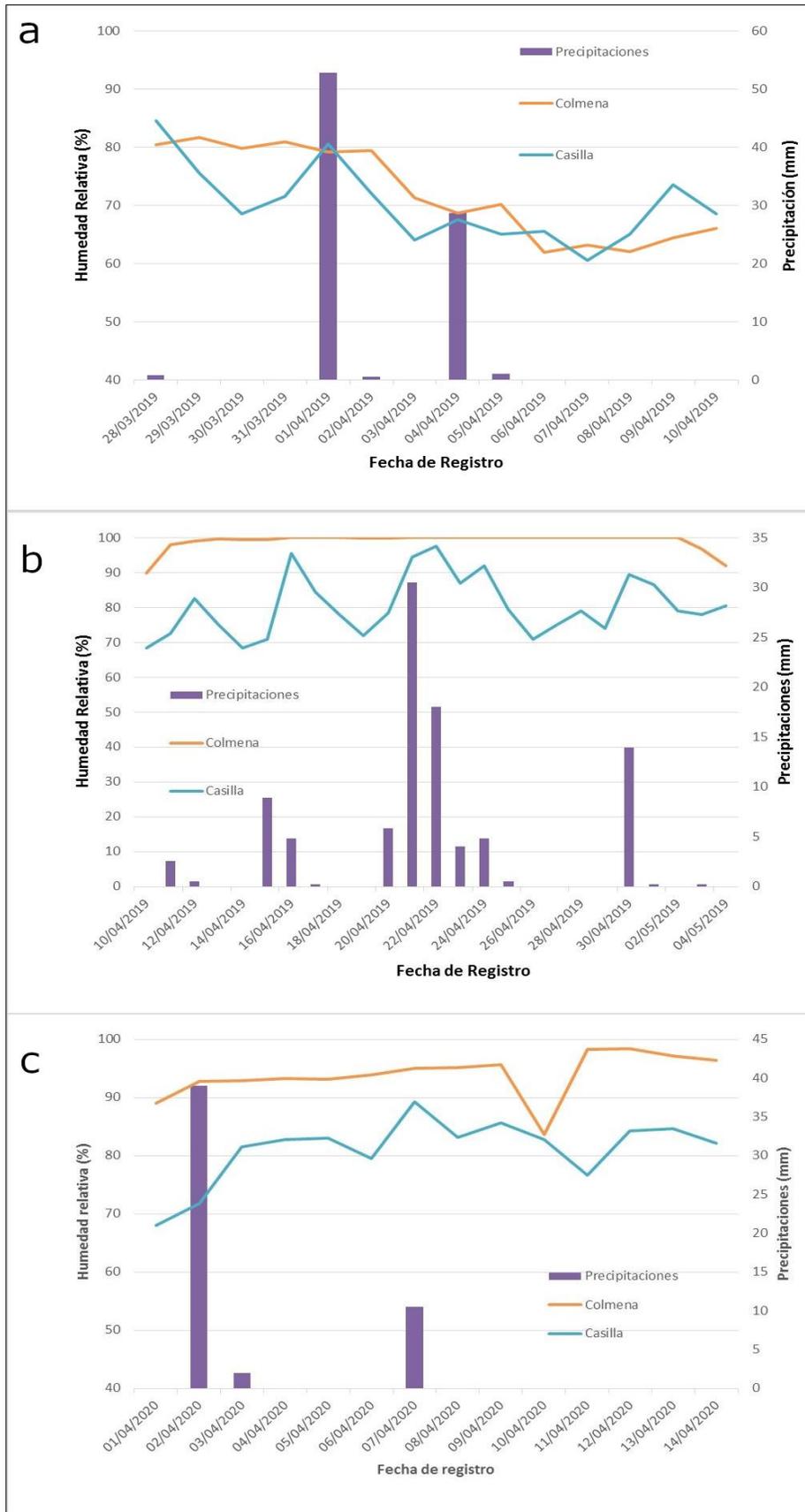
<b>Diferencia</b>	3,23 ± 5,3	18,59 ± 8,2	-0,03 ± 4,8	-0,76 ± 5,5	12,84 ± 5,8
-------------------	------------	-------------	-------------	-------------	-------------



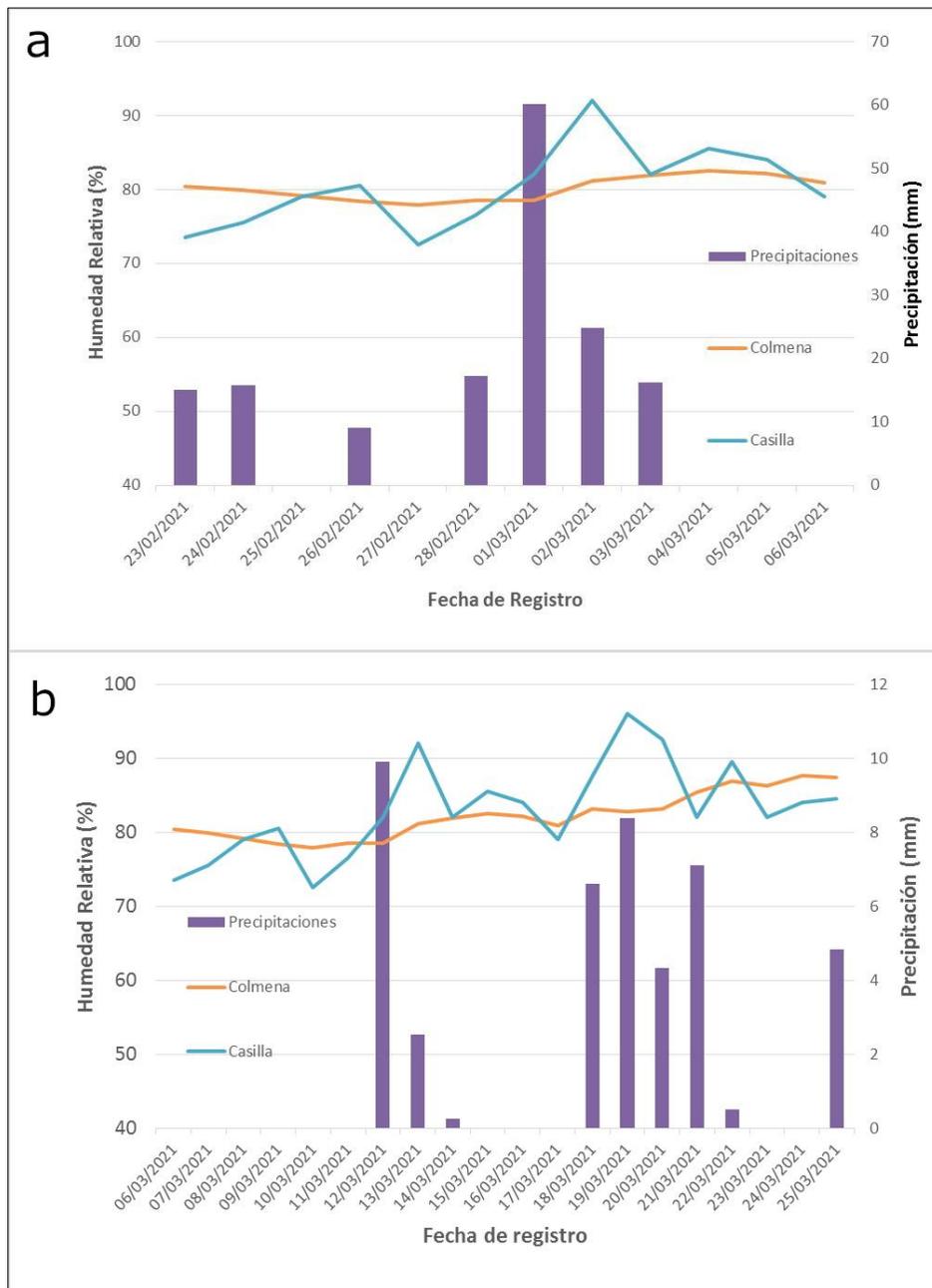
**Figura 100:** Temperatura registrada diariamente, dentro de los nidos estudiados y en el ambiente circundante de cada una de las ubicaciones. (a) Nido A: Campo Escuela Superior de Agricultura. (b) Nido B: Jardín Botánico. (c) Nido Semiconfinamiento EEA INTA Famaillá.



**Figura 101:** Temperatura registrada diariamente, dentro de los nidos estudiados y en el ambiente circundante de cada una de las ubicaciones. (a) Nido H: Tafí Viejo 1. (b) Nido I: Tafí Viejo 2.



**Figura 102:** Humedad relativa registrada diariamente dentro de los nidos estudiados y en el ambiente circundante de cada una de las ubicaciones, incluyendo el registro de las precipitaciones. (a) Nido A: Campo Escuela Superior de Agricultura. (b) Nido B: Jardín Botánico. (c) Nido Semiconfinamiento EEA INTA Famaillá.



**Figura 103:** Humedad relativa registrada diariamente dentro de los nidos estudiados y en el ambiente circundante de cada una de las ubicaciones, incluyendo el registro de las precipitaciones. (a) Nido H: Tafí Viejo 1. (b) Nido I: Tafí Viejo 2.

## Discusión

En este estudio, se observó que los sitios utilizados por *Bombus pauloensis* para el desarrollo de sus colonias en las áreas investigadas de la provincia de Tucumán, se encuentran en el suelo.

Aplicando la clasificación de Moure y Sakagami (1962) los nidos encontrados fueron, exclusivamente subterráneos (con túnel de entrada), predominantemente subterráneos, mixtos y predominantemente terrestres. La generación de nidos en la superficie del suelo (Sakagami et al., 1967), subterráneos (Cameron & Jost, 1998) y hasta aéreos (Días, 1960) sugieren una gran plasticidad y adaptabilidad de la especie, respaldando su amplia distribución (Abrahamovich & Díaz, 2002).

Las especies del neotrópico pertenecientes al subgénero *Thoracobombus* (Williams et al., 2022) difieren en la elección de los sitios de nidificación. Mientras que *B. pauloensis* y *Bombus brevivillus* Franklin exhiben una alta plasticidad (González et al., 2004; Oliveira et al., 2015). Otras especies del subgénero son más selectas presentando hábitos principalmente superficiales (predominantemente terrestres) como son los casos de *Bombus morio* Swederus (Laroca, 1976; Sosa & Brewer, 1998), *Bombus pullatus* Franklin (Hines et al., 2007) y *Bombus transversalis* Olivier (Olesen, 1989; Taylor & Cameron, 2003) o anidando bajo la superficie (exclusivamente subterráneos) como *Bombus brasiliensis* Lepelletier (Moure & Sakagami, 1962; Laroca, 1972). A su vez Hoffman et al. (2004) describió que el sitio de nidificación preferencial de *Bombus melaleucus* Handlirsch, especie neotropical perteneciente al subgénero *Cullumanobombus*, es subterráneo.

Los nidos de *B. pauloensis* aquí estudiados se hallaron en áreas con alto impacto antrópico, siempre protegidos del sol. Todos eran crípticos y difíciles de descubrir, camuflados con la vegetación muerta acumulada en el suelo y la vegetación viva circundante, como se describió previamente por Sakagami et al. (1967) y González et al. (2004). Las entradas a los nidos no presentaron estructuras especializadas en ninguno de los casos; eran huecos redondeados en la capa superficial del nido, únicamente distinguibles por la entrada y salida de individuos de la colonia. La mayoría se encontraba orientada hacia el Oeste (con un solo registro cuya orientación era hacia el sur) y medían entre 1,5 cm y 3 cm de circunferencia.

Los nidos predominantemente subterráneos, mixtos y predominantemente terrestres estaban cerca de la entrada, mientras que en los exclusivamente subterráneos, la entrada se conectaba con el exterior a través de una especie de túnel con longitudes variables (de 6,5 a 80 cm).

Aquellos con cobertura estaban al ras del suelo, y la cobertura, hecha de materia vegetal viva y muerta (pastos, hojas, secas, palos huecos y finos), formaba una capa protectora que mantenía al nido seco en su superficie. No mostraban formas abultadas que sobresalieran de la superficie del terreno como en los

nidos de *B. transversalis* (Taylor & Cameron, 2003) y *B. pullatus* (Oliveira et al., 2015) que exhiben una forma cónica o de domo. Los nidos subterráneos carecían de este tipo de cobertura.

La construcción de la cobertura fue observada como una acción directa de corte y transporte de materia vegetal por individuos de la colonia, sugiriendo que es una representación general de lo que ocurre en aquellos nidos que presentan esta cobertura. Este tipo de comportamiento fue reportado en el abejorro amazónico *Bombus transversalis* por Taylor & Cameron (2003) como característica particular de esta especie, pero más tarde fue inferido por González et al. (2004) en el altiplano andino para *B. pauloensis*, y descrito por Hines et al. (2007) en *B. pullatus* Franklin (en Costa Rica) y por Oliveira et al. (2015) en *B. brevivillus* (Brasil). A diferencia de *B. transversalis*, en este estudio no se observaron senderos irradiando desde el nido, utilizados para transportar el material de construcción, como se describió en Cameron et al. (1999).

Se detectó la presencia de involucro en la periferia de los nidos extendiéndose hacia arriba, aunque en ningún caso se dio la cobertura completa de los nidos a diferencia de lo reportado por Olivera et al. (2015) en los nidos de *B. brevivillus* (en Ceará, Brasil) quienes lo describen como una “*delicada envuelta de cera*” protectora del área de cría sin más detalles. Además, se registró un único caso donde los abejorros incorporaron material artificial (plástico) en la matriz del involucro periférico. Dado que esta estructura fue encontrada tanto en nidos superficiales como en aquellos dentro de cavidades, se infiere que puede ser un mecanismo físico para mantener la temperatura y humedad del nido en niveles óptimos. Aunque Sakagami et al. (1967) mencionan que la cubierta incompleta se construyó después de colocar la colmena en una caja de observación como caso eventual. Por otro lado, Cameron & Jost (1998) indican su ausencia en un nido colectado en San Pablo, Brasil. González et al. (2004) reportan su presencia en al menos dos nidos naturales así como también la incorporación de material artificial (cartón). Ellos sugieren que este comportamiento se debe a que la mayoría de los abejorros utilizan los materiales disponibles en el sitio de construcción del nido modificándolos como plantea Michener (1974). Por otro lado, teniendo en cuenta otras especies pertenecientes al subgénero *Thoracombombus*, Laroca (1976) reporta que *B. morio* no construye una cubierta de cera en su nido en Brasil y Sosa y Brewer (1998) tampoco lo detallan en su estudio sobre la misma especie en Argentina. Laroca (1972) sólo encontró una pequeña lámina de cera marrón en uno de los lados de un nido de *B. brasiliensis* Lepeletier.

En todos los casos estudiados las nuevas celdas de cría se construyeron encima de celdas ya activas que se encontraban ocupadas por individuos en estado avanzado de desarrollo (prepupas y pupas), revelando un sistema de crecimiento del nido ascendente y hacia la periferia. Tal sistema también es

notorio por la presencia de celdas de cría viejas, abandonadas y colonizadas por hongos en los niveles más profundos del nido, similar a lo descrito previamente para *B. paulonesis* y otras especies del neotrópico (Sakagami et al. 1967; Laroca, 1972; Laroca, 1976; Sosa & Brewer, 1998; Taylor & Cameron 2003, González et al., 2004). Debajo de las celdas viejas a menudo se encontraron detritos vegetales y propios de los abejorros, partes de cuerpos de abejorros y piedras, todo junto en una masa compacta, conformando la “cámara de defecación”.

Bolsillos de alimentación en celdas larvales tempranas, características de la especie, también se observaron, al igual que las reservas de jarabe y polen en ex celdas de pupas y potes enteramente contruidos de cera, respectivamente, siendo una característica común en esta especie y otras del subgénero *Fervidobombus* (Sakagami et al., 1967; Sakagami et al., 1976; Taylor & Cameron, 2003 y González et al., 2004). En un solo caso, el tamaño de los bolsillos de alimentación fue tal, que exhibía la presencia de varias celdas larvales recientes y contiguas sobre la pared del mismo, a diferencia del bolsillo regularmente encontrado que es construido desde la base de la celda larval hacia adelante y generalmente no supera el tamaño de la celda (Sakagami et al., 1967), por lo que resultaría razonable inferir que las celdas de inicio hayan sido contruidas sobre el pote de reserva de polen y que no se trate de un bolsillo de alimentación expandido.

La temperatura interna de los nidos osciló entre 19 y 28°C y los nidos permanecieron entre 2 y 7°C por encima de la temperatura ambiente. Es relevante mencionar que los nidos naturales en Horco Molle (1 y 2) se encontraron muertos al momento de la extracción del dispositivo de medición por lo que la diferencia de temperatura media con el ambiente (1 y 0°C respectivamente) seguramente no está relacionada con la termorregulación ejercida por las abejas. La colonia mantenida en semiconfinamiento registró una diferencia de temperatura media de 2°C mayor que aquel nido natural que presentó la mayor diferencia con el ambiente (5,42 ± 2, Tafí Viejo 2). Posiblemente este hecho se encuentra relacionado con el tipo de envase de contención utilizado durante el período de observación de la colonia en semiconfinamiento. En conclusión, los datos sugieren que las colonias aquí estudiadas tienden a mantener una temperatura interna más cálida, al menos 5°C, de manera constante con respecto al ambiente externo. Este hecho ya ha sido reportado para *B. pauloensis*, a 2586 m de altitud, en Colombia (González et al., 2004), para *B. transversalis* en la selva tropical de la cuenca del Amazonas (Taylor & Cameron, 2003) y para *B. pullatus* en Costa Rica (Hines et al., 2007), probablemente como resultado de la incubación activa de las celdas de cría a través de contracciones musculares (Heinrich, 1979).

A pesar de que existen numerosos reportes relacionados a la temperatura interna de los nidos naturales

de *B. pauloensis*, no se encontró en la literatura información sobre los parámetros de humedad relativa interna. Este estudio constató que los nidos presentan rangos de humedad relativa media que oscilan entre el 73 y el 99%. Es conocido que la mayoría de los insectos sociales poseen capacidades reguladoras para controlar las condiciones microambientales dentro de los nidos (Seeley & Heinrich, 1981), a pesar de ello se describió para *B. terrestris* (Weidenmüller, 2004), que un aumento en los niveles de humedad relativa no provocó una respuesta de abanico de la colonia. En este estudio este accionar no pudo ser verificado. Se sugiere que altos niveles de humedad favorecen el desarrollo de la cría y no comprometen el normal desarrollo de las actividades de la colonia.

## Conclusiones

La plasticidad en la selección de los sitios de nidificación y la incorporación de material artificial indican que pueden ser ofrecidos diferentes materiales para el inicio y desarrollo de las colonias en confinamiento. El hecho de que los nidos se encuentren al reparo del sol directo y cuenten con una cobertura de protección indica que para el desarrollo de las colonias es posible proveer un ambiente oscuro sin necesidad del uso de luz artificial. Las condiciones de temperatura y humedad relativa microambientales registradas dentro de los nidos naturales revelan que la temperatura óptima para el desarrollo de la especie se da entre 26 y 28°C y la humedad ambiental no debería ser menor al 70%.

## Consideraciones finales



## Conclusiones finales

Los monitoreos realizados en dos zonas de la provincia de Tucumán donde la bibliografía indicaba la ocurrencia de varias especies de *Bombus* permitieron corroborar que tres especies son frecuentes: *B. pauloensis*, *B. morio* y *B. tucumanus*, en ese orden de importancia, y de ellas, *B. pauloensis* es la más abundante en los dos sitios monitoreados.

Bajo condiciones de confinamiento solo se pudieron establecer colonias de *B. pauloensis* y *B. morio*, y la primera demostró mayor capacidad para iniciar colonias que *B. morio*. Las jaulas de plástico favorecieron el éxito inicial, y las reinas ovipusieron más rápido en ellas. Además, *B. pauloensis* prefirió construir la celda de inicio en el piso de la jaula, mientras que *B. morio* no mostró preferencia. Los hallazgos sobre la viabilidad de las reinas en condiciones de confinamiento y la influencia de diversos factores en el éxito de colonización y desarrollo de nuevas colonias indican la necesidad de adaptar los enfoques de cría para cada especie.

Al valorar el éxito reproductivo y desarrollo de colonias en confinamiento de las especies *B. pauloensis* y *B. morio*, se encontró que más del 50% de las reinas confinadas de *B. pauloensis* produjeron descendencia, a pesar de las dificultades relacionadas con la alimentación larval. En contraste, *B. morio* no mostró descendencia, subrayando las necesidades específicas de cada especie para establecer colonias exitosas.

Respecto a *B. pauloensis*, los resultados obtenidos en esta tesis ofrecen una visión detallada y multifacética de la biología, dinámica y desarrollo de sus colonias, en diferentes condiciones (confinamiento, semiconfinamiento y natural), subrayando la importancia de factores como el material del nido, la provisión de alimento adecuado para su desarrollo, el comportamiento de las obreras y la respuesta al estrés ambiental en la supervivencia y el éxito reproductivo de esta especie.

El uso de jarabe enriquecido influyó significativamente en el éxito reproductivo, y las jaulas de plástico favorecieron el desarrollo. La combinación de jarabe enriquecido y jaulas de plástico también redujo el

tiempo de desarrollo pre-imaginal.

En relación al impacto de dos tipos de nidos artificiales en la dinámica y desarrollo de las colonias bajo condiciones de semiconfinamiento, se observó que se produjeron sexados al permitir a las colonias pecorear libremente y al estar expuestas a una temperatura ambiental más elevada. Esto sugiere que el material de construcción de la colmena no es un factor determinante en el desarrollo de las colonias en este tipo de entorno, refutando así la hipótesis planteada y respaldando hallazgos previos que indican una mejora en el desempeño de las colonias cuando se trasladan al exterior permitiendo que sus integrantes busquen libremente aprovisionar el nido. En cambio, en condición de confinamiento total, se observó una influencia del material en el desarrollo de las colonias siendo que las colonias mantenidas en jaulas nido de plástico tuvieron una vida más prolongada en el tiempo y produjeron un mayor número de obreras.

En cuanto al estudio de la fenología de pecoreo, la actividad no cesó cuando la temperatura o humedad relativa ambiente son extremas, pero el forrajeo de las obreras se vio favorecido cuando las altas temperaturas estuvieron acompañadas de una elevada humedad relativa, y viceversa. Esta interacción entre factores ambientales destaca la importancia de considerar múltiples variables al estudiar el comportamiento de los abejorros, sugiriendo que los efectos individuales de cada variable pueden no ser predictivos por sí solos.

El estudio de nidos naturales permitió apreciar que la plasticidad en la elección del sitio de nidificación, el sistema de crecimiento del nido y las estrategias de gestión de recursos observadas en *B. pauloensis* contribuyen a su éxito en diferentes entornos. La flexibilidad en la elección de los sitios de nidificación y la capacidad de adaptación al incorporar material artificial sugieren la posibilidad de ofrecer una amplia variedad de materiales para el establecimiento y crecimiento de las colonias. Además, el hecho de que los nidos estén resguardados del sol directo y cuenten con una cubierta protectora insinúa que, para el desarrollo de las colonias en confinamiento, lo correcto es crear un entorno oscuro sin recurrir a la

iluminación artificial. Las condiciones microambientales de temperatura y humedad relativa registradas dentro de los nidos naturales indican que la temperatura óptima para el desarrollo de la especie se sitúa entre 26 y 28°C, y que la humedad ambiental no debería ser inferior al 70%. Los resultados respaldan la hipótesis de que la arquitectura de los nidos de *B. pauloensis* y su hábitat exhiben adaptaciones específicas para maximizar la eficiencia reproductiva y la supervivencia de las colonias en confinamiento.

## Limitaciones

Las limitaciones relacionadas al desarrollo de este trabajo de tesis:

- **Obtención de material vivo en confinamiento.** Aunque al inicio de este trabajo la intención era mantener los protocolos de cría con los cuales se venía trabajando en las investigaciones precedentes, tratando de influir lo mínimo posible en el desarrollo, la cría en confinamiento presentó limitaciones en cuanto a la provisión de los recursos nutricionales necesarios para el desarrollo de los adultos. La calidad del polen provisto a las colmenas no era la esperada para que produzcan un número de adultos (mínimo 10 obreras) que permitiera un desarrollo de las colonias comparable al observado en condiciones naturales y posibilite su estudio. Como consecuencia tampoco se obtuvo un número de obreras (mínimo 20) que posibilite su traslado al exterior para el desarrollo de los otros objetivos que se incluyeron en esta tesis doctoral. Esto afectó el avance de las investigaciones por tres años consecutivos por lo que se llegó a la determinación de formular un jarabe enriquecido con el que se obtuvo la producción de adultos esperada.
- **Dificultad para encontrar los nidos naturales.** Los nidos naturales son crípticos en la naturaleza lo que dificultó su descubrimiento para el correspondiente estudio. De hecho no se pudieron localizar nidos de la especie *B. morio* a pesar de haber sido clasificada como la segunda especie más abundante en la zona de estudio.

- **Monitoreo de actividades de forrajeo:** El monitoreo de entradas y salidas de obreras de las colmenas en semiconfinamiento fue una tarea difícil de llevar. La distancia de seguridad a la que podía ubicarse un observador sin ser detectado por una obrera no permitía divisar el contenido de polen en las corbículas de las obreras. Si bien a menor distancia se divisaba el contenido, después de 5 minutos de observación las obreras defendían el nido atacando al observador.
- **Aislamiento social y preventivo:** debido a la pandemia ocasionada por el virus del Sars Covid -19 se interrumpió el acceso a EEA INTA Famaillá, donde se llevaba a cabo tanto la cría en confinamiento como la cría en semiconfinamiento. Bajo estos lineamientos no se pudo continuar con el estudio de los nidos mantenidos en confinamiento, como ser la toma de medida de las celdas. A pesar de que las colonias fueron aprovisionadas con una cantidad mayor de alimento de lo habitual, el desarrollo de polillas (*Achroia grisella*) resultó en la pérdida de la cría en desarrollo y de las celdas, ya que las polillas se alimentan de cera, miel, polen e incluso de las crías de las abejas, produciendo la inutilización de las estructuras del nido.

## Proyecciones

Como resultado de los estudios llevados a cabo para el desarrollo de esta Tesis se proyecta continuar con las investigaciones como sigue:

- Protocolo extensible para la cría de otras especies del género *Bombus*.
- Estudio de condiciones ambientales necesarias para la producción de reinas de la especie *B. pauloensis* en confinamiento.
- Cuantificación de los tiempos de desarrollo de machos y reinas en las colonias de *B. pauloensis*.
- Análisis de las condiciones ambientales bajo las cuales se produce la construcción de involucro y sus implicancias en la biología del desarrollo de *B. pauloensis*.

- Estudio de las condiciones ambientales óptimas para la producción de adultos y sexuales por parte de reinas de *B. morio* obtenidas en la naturaleza.
- Estudio de la biología de nidificación de *B. morio*.

# Anexo

## Capítulo 2

Tabla de Informe de análisis de contenido de proteína bruta en polen fresco

EEA-Famailá ID Muestra	ID Lab	N Total (%)	Proteínas (%)	ID Muestra	ID Lab	N Total (%)	Proteínas (%)
M 1: Polen	18/1803	2.4	15.3	M 11: Polen	18/1813	2.3	14.6
M 2: Polen	18/1804	2.2	13.6	M 12: Polen	18/1814	2.2	13.5
M 3: Polen	18/1805	2.5	15.6	M 13: Polen	18/1815	2.1	12.9
M 4: Polen	18/1806	2.8	17.7	M 14: Polen	18/1816	3.0	18.6
M 5: Polen	18/1807	2.7	16.9	M 15: Polen	18/1817	2.0	12.7
M 6: Polen	18/1808	2.7	17.0	M 16: Polen	18/1818	3.7	23.3
M 7: Polen	18/1809	2.3	14.5	M 17: Polen	18/1819	2.2	13.8
M 8: Polen	18/1810	2.8	17.3	M 18: Polen	18/1820	2.7	16.8
M 9: Polen	18/1811	2.7	16.9	M 19: Polen	18/1821	2.6	14.4
M 10: Polen	18/1812	9.2	14.0	M 20: Polen	18/1822	2.47	15.4

Referencias: ID Lab: identificación de muestra en laboratorio. N Total: Nitrógeno total

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

- **Salida del Modelo mixto**

```
modelo <- glmer(Nidificacion.num ~ fTipo.jaula + fEspecie + (1|fAño), data=ambas.sp, family=binomial)
```

Generalized linear mixed model fit by **maximum likelihood** (Laplace Approximation) ['glmerMod']

Family: binomial ( logit )

Formula: Nidificacion.num ~ fTipo.jaula + fEspecie + (1 | fAño)

Data: ambas.sp

AIC BIC logLik deviance df.resid  
399.9 414.8 -195.9 391.9 305

**Random effects:**

Groups Name Variance Std.Dev.  
fAño (Intercept) 0.09406 0.3067

Number of obs: 309, groups: fAño, 4

**Fixed effects:**

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-0.8162	0.3825	-2.134	0.032844 *
fTipo.jaulaplástico	0.8842	0.2455	3.602	0.000316 ***
fEspecieBombus pauloensis	0.9808	0.3463	2.832	0.004619 **

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Significancia de las variables predictoras

Model:

Nidificacion.num ~ fTipo.jaula + fEspecie + (1 | fAño)

Response: Nidificacion.num

	Chisq	Df	Pr(>Chisq)
fTipo.jaula	12.975	1	<b>0.0003157</b> ***
fEspecie	8.023	1	<b>0.0046186</b> **

**Contraste a posteriori de la preferencia sobre el tipo de jaula nido de inicio**

```
contrastes.3 <- emmeans(faleambas.1, ~ fTipo.jaula|fEspecie, type="response", adjust = "Tukey",  
infer=c(T,T))
```

\$contrasts

fEspecie = **Bombus morio**

fTipo.jaula	prob	SE	asympt.LCL	asympt.UCL	z.ratio	p.value
madera	0.307	0.0813	0.158	0.510	-2.134	0.0646
plástico	0.517	0.0921	0.319	0.710	0.184	0.9786

fEspecie = **Bombus pauloensis**

fTipo.jaula	prob	SE	asympt.LCL	asympt.UCL	z.ratio	p.value
madera	0.541	0.0572	0.413	0.664	0.714	0.7248
plástico	0.741	0.0474	0.622	0.832	4.250	<.0001

Confidence level used: 0.95

Intervals are back-transformed from the log odds ratio scale

Tests are performed on the log odds ratio scale

- **Salida del modelo con interacción**

```
Modelo <- glmer(Nidificacion.num ~ fTipo.jaula + fEspecie + fTipo.jaula:fEspecie + (1|fAño),
data=ambas.sp, family=binomial)
```

Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace Approximation) ['glmerMod']

Family: binomial ( logit )

Fórmula: Nidificacion.num ~ fTipo.jaula \* fEspecie + (1 | fAño)

Data: ambas.sp

AIC	BIC	logLik	deviance	df.resid
401.9	420.6	-195.9	391.9	304

Scaled residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.9387	-0.9688	0.5387	0.8012	1.6970

Random effects:

Groups	Name	Variance	Std.Dev.
fAño	(Intercept)	0.09422	0.307

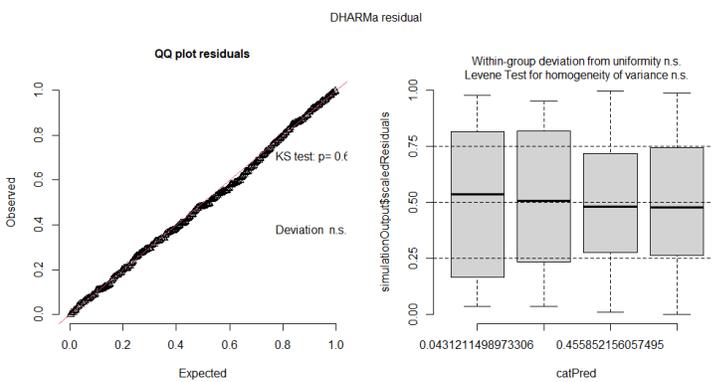
fAño (Intercept) 0.09422 0.307

Number of obs: 309, groups: fAño, 4

**Fixed effects:**

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-0.82810	0.51774	-1.599	0.1097
fTipo.jaulaplástico	0.90460	0.64636	1.400	0.1617
fEspecieBombus pauloensis	0.99426	0.52623	1.889	0.0588
fTipo.jaulaplástico:fEspecieBombus pauloensis	-0.02387	0.69950	-0.034	0.9728

### RESULTADO VALIDACIÓN DEL MODELO MIXTO FINAL (DHARMA)



### Capítulo 3

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Análisis estadístico de duración del estado Huevo

#### Efectos fijos

Objetivo:huevo

Origen	F	df1	df2	Sig.
Modelo corregido ▼	34,054	3	276	,000
Jaula	19,694	1	276	,000
Comida	49,584	1	276	,000
Jaula*Comida	9,843	1	276	,002

Distribución de probabilidad:Poisson  
Función de enlace:Logaritmo

**Medias estimadas: Jaula**

Destino: huevo

Estimaciones

Jaula	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
madera	6,708	0,142	6,434	6,993
plástico	5,949	0,100	5,755	6,149

Contrastes por parejas

Jaula...	Estimación de contraste ▶	Sig. aj.
madera - plástico	0,759	0,000
plástico - madera	-0,759	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

F	df1	df2	Sig.
19,061	1	276	0,000

**Medias estimadas: Comida**

Destino: huevo

Estimaciones

Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
común	6,948	0,156	6,648	7,262
enriquecido	5,743	0,087	5,574	5,916

Contrastes por parejas

Comida...	Estimación de contraste ▶	Sig. aj.
común - enriquecido	1,205	0,000
enriquecido - común	-1,205	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

F	df1	df2	Sig.
45,620	1	276	0,000

Ref: madera: jaula nido de inicio B; plástico: Jaula nido de inicio A.

Medias estimadas: Jaula\*Comida

Destino: huevo

Estimaciones

Jaula	Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
				Inferior	Superior
madera	común	7,071	0,254	6,588	7,590
	enriquecido	6,362	0,143	6,088	6,650
plástico	común	6,827	0,183	6,475	7,198
	enriquecido	5,183	0,105	4,980	5,395

Contrastes por parejas

Jaula	Comida...	Estimación de contraste ►	Sig. aj.
madera	común - enriquecido	0,709	0,016
	enriquecido - común	-0,709	0,016
plástico	común - enriquecido	1,644	0,000
	enriquecido - común	-1,644	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

Jaula	F	df1	df2	Sig.
madera	5,912	1	276	0,016
plástico	60,477	1	276	0,000

Medias estimadas: Jaula\*Comida

Destino: huevo

Estimaciones

Jaula	Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
				Inferior	Superior
madera	común	7,071	0,254	6,588	7,590
	enriquecido	6,362	0,143	6,088	6,650
plástico	común	6,827	0,183	6,475	7,198
	enriquecido	5,183	0,105	4,980	5,395

Contrastes por parejas

Comida	Jaula...	Estimación de contraste ►	Sig. aj.
común	madera - plástico	0,245	0,436
	plástico - madera	-0,245	0,436
enriquecido	madera - plástico	1,179	0,000
	plástico - madera	-1,179	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

Comida	F	df1	df2	Sig.
común	0,608	1	276	0,436
enriquecido	44,256	1	276	0,000

Ref: madera: jaula nido de inicio B; plástico: Jaula nido de inicio A.

• Análisis estadístico de duración del estado Larva

Efectos fijos

Objetivo:larva

Origen	F	df1	df2	Sig.
Modelo corregido ▼	133,420	3	276	,000
Jaula	23,179	1	276	,000
Comida	252,876	1	276	,000
Jaula*Comida	29,886	1	276	,000

Distribución de probabilidad:Poisson  
Función de enlace:Logaritmo

**Medias estimadas: Jaula**

Destino: larva

Estimaciones

Jaula	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
madera	14,364	0,206	13,964	14,775
plástico	15,638	0,161	15,324	15,959

Contrastes por parejas

Jaula...	Estimación de contraste ▶	Sig. aj.
madera - plástico	-1,274	0,000
plástico - madera	1,274	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

F	df1	df2	Sig.
23,753	1	276	0,000

**Medias estimadas: Comida**

Destino: larva

Estimaciones

Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
común	17,246	0,250	16,762	17,745
enriquecido	13,025	0,132	12,768	13,286

Contrastes por parejas

Comida...	Estimación de contraste ▶	Sig. aj.
común - enriquecido	4,221	0,000
enriquecido - común	-4,221	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

F	df1	df2	Sig.
223,675	1	276	0,000

Ref: madera: jaula nido de inicio B; plástico: Jaula nido de inicio A.

**Medias estimadas: Jaula\*Comida**

Destino: larva

Estimaciones

Jaula	Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
				Inferior	Superior
madera	común	15,750	0,379	15,021	16,514
	enriquecido	13,100	0,204	12,704	13,509
plástico	común	18,885	0,304	18,295	19,494
	enriquecido	12,950	0,166	12,627	13,281

Contrastes por parejas

Jaula	Comida...	Estimación de contraste	Sig. aj.
madera	común - enriquecido	2,650	0,000
	enriquecido - común	-2,650	0,000
plástico	común - enriquecido	5,935	0,000
	enriquecido - común	-5,935	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

Jaula	F	df1	df2	Sig.
madera	37,878	1	276	0,000
plástico	292,866	1	276	0,000

**Medias estimadas: Jaula\*Comida**

Destino: larva

Estimaciones

Jaula	Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
				Inferior	Superior
madera	común	15,750	0,379	15,021	16,514
	enriquecido	13,100	0,204	12,704	13,509
plástico	común	18,885	0,304	18,295	19,494
	enriquecido	12,950	0,166	12,627	13,281

Contrastes por parejas

Comida	Jaula...	Estimación de contraste	Sig. aj.
común	madera - plástico	-3,135	0,000
	plástico - madera	3,135	0,000
enriquecido	madera - plástico	0,150	0,569
	plástico - madera	-0,150	0,569

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

Comida	F	df1	df2	Sig.
común	41,581	1	276	0,000
enriquecido	0,324	1	276	0,569

Ref: madera: jaula nido de inicio B; plástico: Jaula nido de inicio A.

- **Análisis estadístico de duración del estado Pupa**

**Efectos fijos**

Objetivo:pupa

Origen	F	df1	df2	Sig.
Modelo corregido ▼	6,953	3	276	,000
Jaula	8,643	1	276	,004
Comida	7,994	1	276	,005
Jaula*Comida	1,310	1	276	,253

Distribución de probabilidad:Poisson  
Función de enlace:Logaritmo

**Medias estimadas: Jaula**

Destino: pupa

Estimaciones

Jaula	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
madera	11,512	0,193	11,138	11,897
plástico	12,235	0,150	11,944	12,534

Contrastes por parejas

Jaula...	Estimación de contraste ▶	Sig. aj.
madera - plástico	-0,724	0,003
plástico - madera	0,724	0,003

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

F	df1	df2	Sig.
8,792	1	276	0,003

**Medias estimadas: Comida**

Destino: pupa

Estimaciones

Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
común	12,221	0,214	11,806	12,651
enriquecido	11,525	0,128	11,277	11,779

Contrastes por parejas

Comida...	Estimación de contraste ▶	Sig. aj.
común - enriquecido	0,696	0,006
enriquecido - común	-0,696	0,006

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

F	df1	df2	Sig.
7,786	1	276	0,006

Ref: madera: jaula nido de inicio B; plástico: Jaula nido de inicio A.

- **Análisis estadístico de duración del desarrollo pre-imaginal**

**Efectos fijos**

Objetivo:adulto

Origen	F	df1	df2	Sig.
Modelo corregido ▼	97,101	3	276	,000
Jaula	7,888	1	276	,005
Comida	190,857	1	276	,000
Jaula*Comida	27,505	1	276	,000

Distribución de probabilidad:Poisson  
Función de enlace:Logaritmo

**Medias estimadas: Jaula**

Destino: adulto

**Estimaciones**

Jaula	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
madera	32,647	0,345	31,975	33,334
plástico	33,873	0,263	33,358	34,396

**Contrastes por parejas**

Jaula...	Estimación de contraste	Sig. aj.
madera - plástico	-1,226	0,005
plástico - madera	1,226	0,005

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

**Resultados totales de las pruebas**

F	df1	df2	Sig.
7,971	1	276	0,005

**Medias estimadas: Comida**

Destino: adulto

**Estimaciones**

Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior
común	36,409	0,397	35,635	37,200
enriquecido	30,373	0,221	29,941	30,812

**Contrastes por parejas**

Comida...	Estimación de contraste	Sig. aj.
común - enriquecido	6,036	0,000
enriquecido - común	-6,036	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

**Resultados totales de las pruebas**

F	df1	df2	Sig.
176,160	1	276	0,000

Ref: madera: jaula nido de inicio B; plástico: Jaula nido de inicio A.

Medias estimadas: Jaula\*Comida

Destino: adulto

Estimaciones

Jaula	Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
				Inferior	Superior
madera	común	34,536	0,619	33,339	35,775
	enriquecido	30,863	0,346	30,189	31,551
plástico	común	38,385	0,479	37,454	39,338
	enriquecido	29,892	0,278	29,349	30,444

Contrastes por parejas

Jaula	Comida...	Estimación de contraste	Sig. aj.
madera	común - enriquecido	3,673	0,000
	enriquecido - común	-3,673	0,000
plástico	común - enriquecido	8,493	0,000
	enriquecido - común	-8,493	0,000

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

Jaula	F	df1	df2	Sig.
madera	26,851	1	276	0,000
plástico	235,424	1	276	0,000

Medias estimadas: Jaula\*Comida

Destino: adulto

Estimaciones

Jaula	Comida	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza 95%	
				Inferior	Superior
madera	común	34,536	0,619	33,339	35,775
	enriquecido	30,863	0,346	30,189	31,551
plástico	común	38,385	0,479	37,454	39,338
	enriquecido	29,892	0,278	29,349	30,444

Contrastes por parejas

Comida	Jaula...	Estimación de contraste	Sig. aj.
común	madera - plástico	-3,849	0,000
	plástico - madera	3,849	0,000
enriquecido	madera - plástico	0,971	0,030
	plástico - madera	-0,971	0,030

Los contrastes significativos aparecen con un sombreado dorado. El menor nivel de significación ajustado de diferencia significativa es ,05.

Resultados totales de las pruebas

Comida	F	df1	df2	Sig.
común	24,212	1	276	0,000
enriquecido	4,784	1	276	0,030

Ref: madera: jaula nido de inicio B; plástico: Jaula nido de inicio A.

## Capítulo 4

- Imágenes del desarrollo de colonias en situación de semiconfinamiento

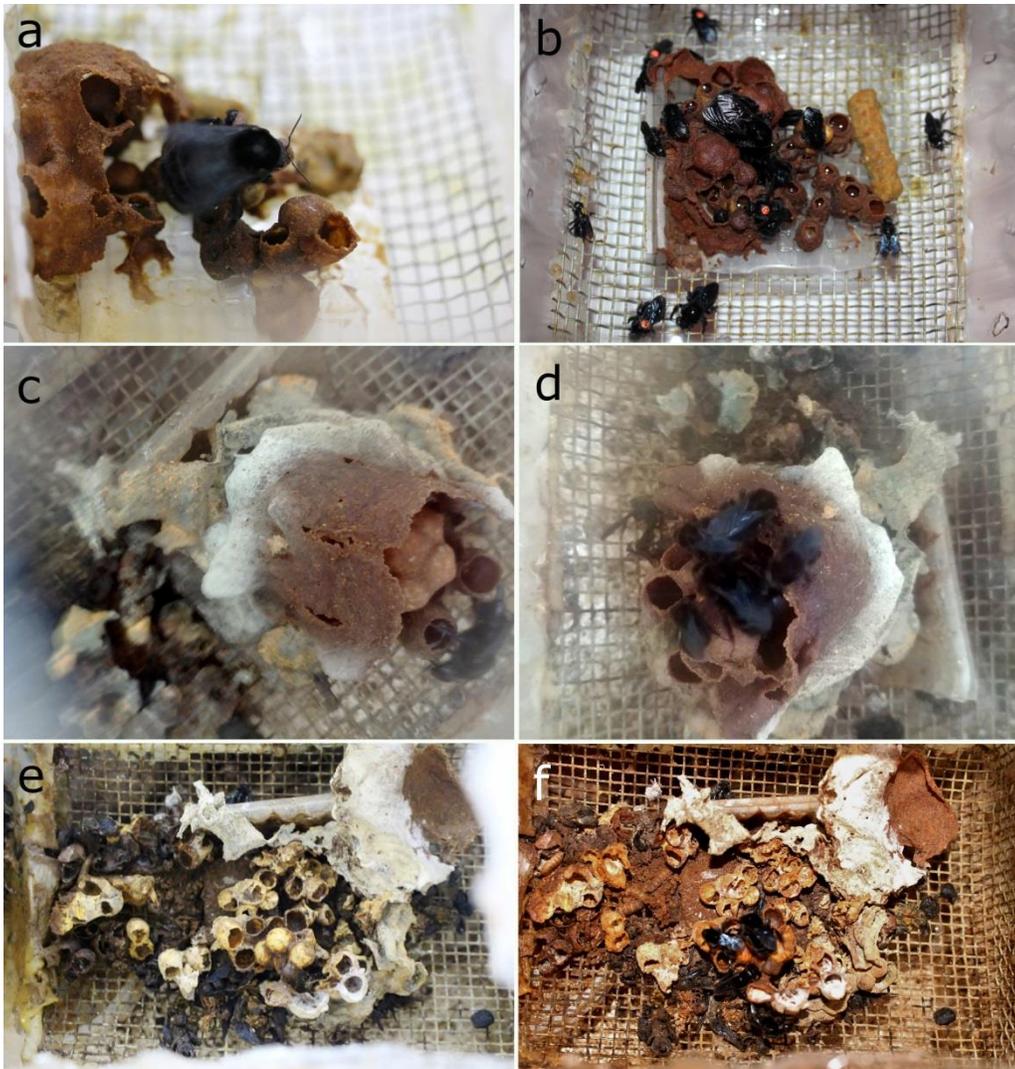


**Detalle de la presencia de involucro en las colmenas mantenidas en semiconfinamiento.** 5L: denominación de la colonia en Jaula nido final A, de plástico. (a) vista frontal de involucro cubriendo parcialmente la zona de cría. (b) vista superior del involucro cubriendo el área de cría en su totalidad.

18C: denominación de la colonia en Jaula nido final B, de madera. (a) vista superior del involucro cubriendo  $\frac{3}{4}$  partes del área de cría. (b) vista superior del involucro cubriendo la mitad del área de área de cría.

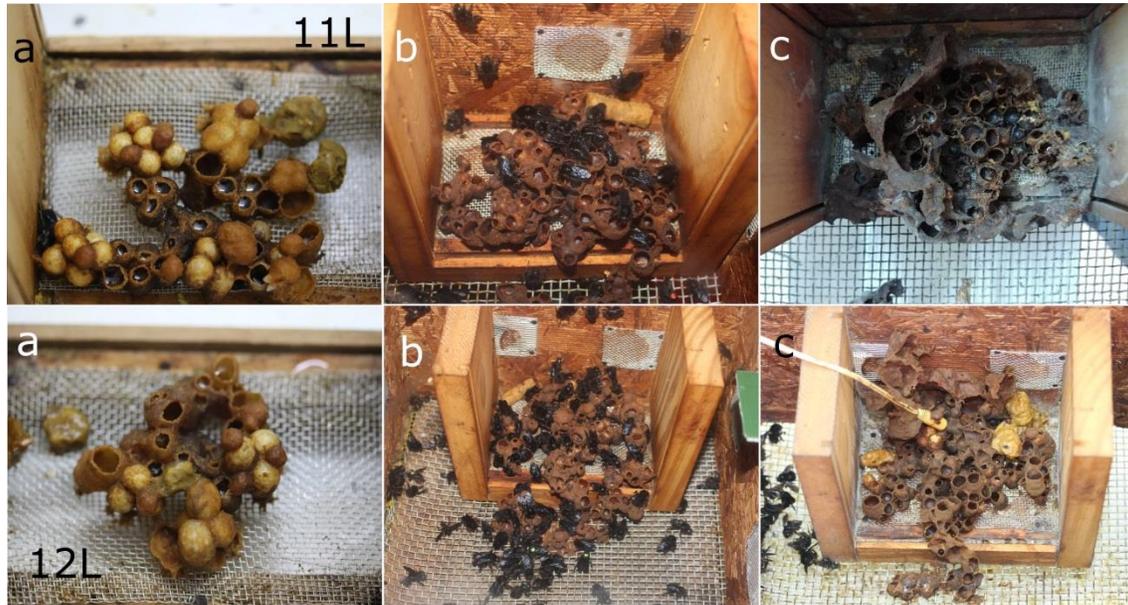


**Colonia en Jaula nido final B, de madera, (5L) mantenida en condiciones de semiconfinamiento. (a)** expansión de la colonia de la Jaula nido de inicio B a la Jaula nido final B, (b) estado de la colonia al momento de la salida de la colmena al exterior, (c y d) progreso de la colonia en exterior, (e) senescencia, y (f) muerte.

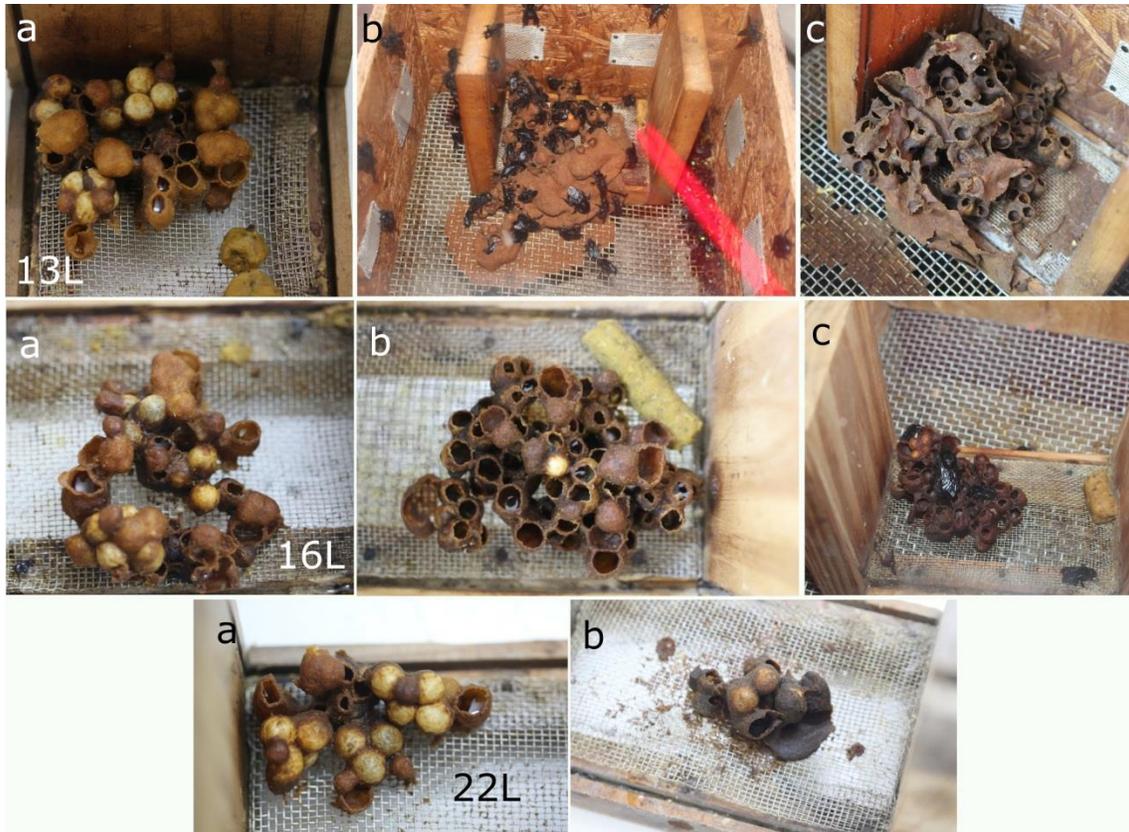


**Colonia en Jaula nido final A, de plástico, (18C) mantenida en condición de semiconfinamiento.** (a) expansión de la colonia de la Jaula nido de inicio A, a la Jaula nido final A, (b) estado de la colonia al momento de la salida de la colmena al exterior, (c y d) progreso de la colonia en exterior, (e) senescencia, y (f) muerte.

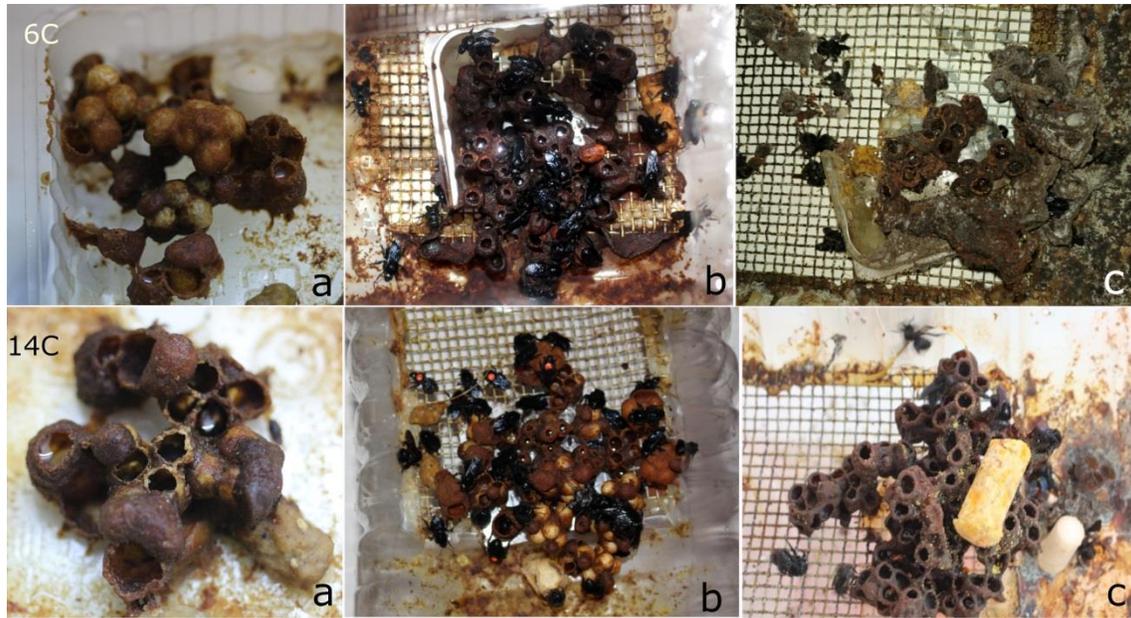
- Imágenes del desarrollo de colonias en situación de confinamiento.



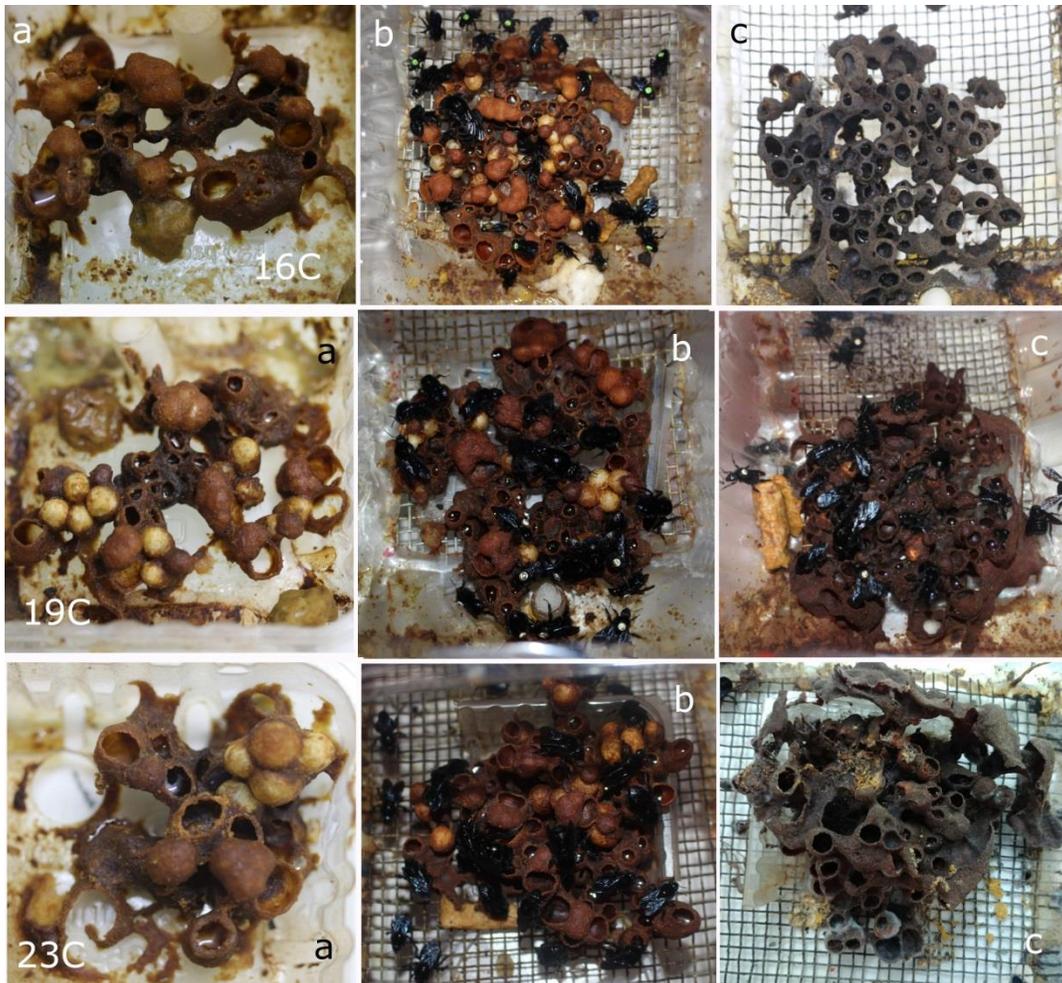
**Progreso del desarrollo de colonias en Jaula nido final B, de madera en condición de confinamiento total.** 11L: denominación de la colonia; (a) detalle del estado de desarrollo al momento de la ampliación de la colmena, traslado de la Jaula nido de inicio B a la Jaula nido final B; (b) progreso de la colonia, con el respectivo aumento de tamaño y número de ocupantes; (c) estado de la colonia al momento de la muerte de la misma. 12L: denominación de la colonia; (a), (b) y (c) detalle de las mismas tres etapas antes mencionadas.



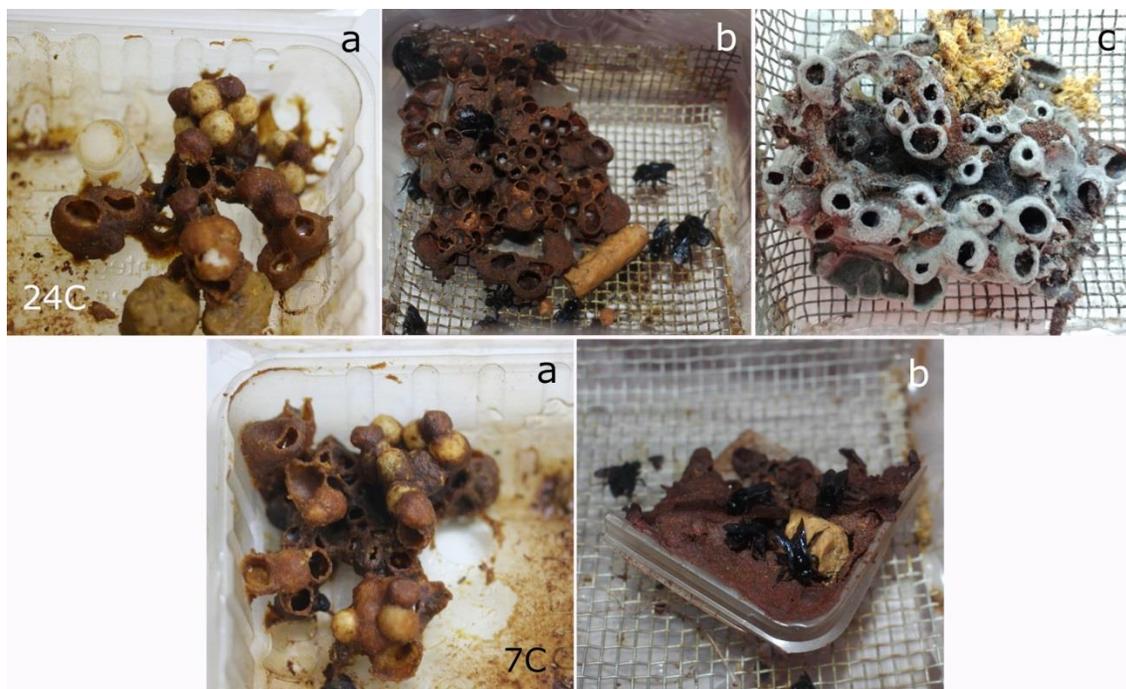
**Progreso del desarrollo de colonias en Jaula nido final B, de madera, mantenidas en total confinamiento.** 13L: denominación de colmena; (a) detalle del estado de desarrollo al momento de la ampliación de la colmena, traslado de la Jaula nido de inicio B a la Jaula nido final B; (b) progreso de la colonia, con el respectivo aumento de tamaño y cantidad de ocupantes; (c) estado de la colonia al momento de la muerte de la misma. 16L: denominación de la colonia; (a), (b) y (c) detalle de las mismas tres etapas antes mencionadas. 22L: denominación de la colonia; (a) detalle del desarrollo de la colonia al momento del traslado a la Jaula nido final B. (b) detalle de la senescencia de la colonia, donde se observa una disminución del tamaño respecto al tamaño al momento del traslado.



**Progreso del desarrollo de colonias en Jaula nido final A, de plástico, mantenidas en total confinamiento.** 6C: denominación de colmena; (a) detalle del estado de desarrollo al momento de la ampliación de la colmena, traslado de la Jaula nido de inicio A a la Jaula nido final A; (b) progreso de la colonia, con el respectivo aumento de tamaño y cantidad de ocupantes; (c) estado de la colonia al momento de la muerte de la misma. 14C: denominación de la colonia; (a), (b) y (c) detalle de las mismas tres etapas antes mencionadas.



**Progreso del desarrollo de colonias en Jaula nido final A, de plástico, mantenidas en total confinamiento.** 16C: denominación de colmena; (a) detalle del estado de desarrollo al momento de la ampliación de la colmena, traslado de la Jaula nido de inicio A, a la Jaula nido final A; (b) Progreso de la colonia, con el respectivo aumento de tamaño y cantidad de ocupantes; (c) estado de la colonia al momento de la muerte de la misma. 19C: denominación de la colonia; (a), (b) y (c) detalle de las mismas tres etapas antes mencionadas. 23C: denominación de la colonia; (a), (b) y (c) detalle de las mismas tres etapas antes mencionadas.



**Progreso del desarrollo de colonias en Jaula nido final A, de plástico, mantenidas en total confinamiento.** 24C: denominación de colmena; (a) detalle del estado de desarrollo al momento de la ampliación de la colmena, traslado de la Jaula nido de inicio A, a la Jaula nido final A; (b) progreso de la colonia, con el respectivo aumento de tamaño y cantidad de ocupantes; (c) estado de la colonia posterior al momento de la muerte de la misma. 7C: denominación de la colonia; (a), detalle del desarrollo de la colonia al momento de su traslado a la jaula nido final de plástico. (b) detalle de la presenescencia de la colonia, donde se observa que el aumento del tamaño no fue mayor al doble con respecto al tamaño al momento del traslado.

## Glosario

**Celda huevo inicial (Ci):** es la primera celda de cera construida por la reina, que contiene huevos.

**Celda huevo:** celda de cera que contiene huevos cuya construcción es posterior a la construcción de la celda huevo inicial.

**Celda larval:** celda de cera que contiene larvas.

**Clamshell:** es un empaque que consta de dos partes de plástico termoperforadas y selladas entre sí, las que contienen el producto de forma “anidada”.

**Nuclero:** es el lugar donde el apicultor desarrolla los núcleos originales de *Apis mellifera* que darán comienzo a una colmena. Son en general, cámaras de cría contruidos de madera, de tres, cuatro o cinco marcos móviles.

**Pecoreo:** actividad de las abejas consistente en la recolección de néctar y/o polen de las flores.

## Referencias

**Abrahamovich, A. & Díaz, N.** (2001). Distribución geográfica de las especies del género *Bombus* Latreille (Hymenoptera Apidae) en Argentina. *Revista Brasileira de entomología* 45(1): 23-26.

**Abrahamovich, A.; Tellería, M. & Díaz, N.** (2001). *Bombus* species and their associated flora in Argentina. *Bee World*, 82, 76-87. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2001.11099505>

**Abrahamovich, A. & Díaz, N.** (2002). Bumble bees of the Neotropical region (Hymenoptera: Apidae). *Biota Colombiana*, 3, 199-214.

**Abrahamovich, A.; Diaz, N. & Morrone, J.** (2004). Distributional patterns of the Neotropical and Andean species of the genus *Bombus* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Zoologica Mexicana*, 20, 99-117.

**Abrahamovich, A.; Díaz, N. & Lucia, M.** (2005). Las especies del género *Bombus* Latreille en Argentina (Hymenoptera: Apidae): Estudio taxonómico y claves para su identificación. *Neotropical Entomology*, 34(2), 235-250. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000200012>

**Abrahamovich, A.; Díaz, N. & Lucia, M.** (2007). Identificación de las “abejas sociales” del género *Bombus* (Hymenoptera, Apidae) presentes en la Argentina: Clave pictórica, diagnosis, distribución geográfica y asociaciones florales. *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Plata*, 106(2).

**Aguilar Benavides, M.L.** (2008). Aspectos da biología reproductiva de *Bombus morio* (Swederus) e *Bombus atratus* Frankling (Hymenoptera, Apidae). Dissertação apresentada a Univerisdade Federal de Viçosa, como parte das exigencias do Programa de Pos Graduação do título de Maguster Scientiae. Minas Gerais - Brasil.

**Aguiar, A.P.; Deans, A.R.; Engel, M.S.; Forshage, M.; Huber, J.T.; Jennings, J.T.; Johnson, N.F.; Lelej, A.S.; Longino, J.T.; Lohrmann, V.; Mikó, I.; Ohl, M.; Rasmussen, C.; Taeger, A. & Yu, D.S.K.** (2013). Order Hymenoptera. In Z. Q. Zhang (Ed.), *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness* (Addenda 2013). *Zootaxa*, 3703: 51–62.

<https://doi.org/10.11646/zootaxa.3703.1.12>

**Aizen, M.A.; Smith-Ramírez, C.; Morales, C.L.; Vieli, L.; Sáez, A.; Barahona-Segovia, R.M.; Arbetman, M.P.; Montalva, J.; Garibaldi, L.A.; Inouye, D.W. & Harder, L.D.** (2018). Coordinated species importation policies are needed to reduce serious invasions globally: The case of alien bumblebees in South America. *Journal of Applied Ecology*, 56(1), 100-106. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13121>

**Aizen, M.A.; Garibaldi, L.A. & Harder, L.D.** (2022). Myth and reality of a global crisis for agricultural pollination. *Ecología Austral* 32:698-715 Aniversario 2022. Asociación Argentina de Ecología. <https://doi.org/10.25260/EA.22.32.2.1.1875>

**Aldana, J.; Cure, J.; Almanza Fandiño, M.; Vecil, D. & Rodríguez, D.** (2007). Effect of *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) on tomato production (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in greenhouse in Bogotá plateau, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 25, 62.

**Alford, D.V.** (1975). *Bumblebees*. Davis-Poynter.

**Alford, D.V.** (1978). *The Life of the Bumblebee*. Davis-Poynter.

**Allendes, J.L. & Montalva, J.** (2011). First record of the mite *Kuzinia laevis* (Dujardin, 1849) (Acarina: Acaridae) in Chile. *Boletín de Biodiversidad de Chile*, 5, 36-38.

**Almanza Fandiño, M. T.** (2007). Management of *Bombus atratus* bumblebees to pollinate Lulo (*Solanum quitoense* L), a native fruit from the Andes of Colombia. *Ecology and Development Series N°*. 50, 2007

**Andena, S.; Bego L. & Mechi, M.** (2005). Comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) de uma área de cerrado (Corumbataí, SP) e suas visitas às flores. *Rev. Bras. Zoociências Juiz da Fora* 7 (1): 47-54. ISSN 1517-6770

**Almeida, E.A.B.** (2008). Colletidae nesting biology (Hymenoptera: Apoidea). *Apidologie*, 2008, 39 (1), pp.16-29. hal-00891941

**Antoine, C.M. & Forrest, J.R.K.** (2021). Nesting habitat of ground-nesting bees: A review.

Ecological Entomology, 46(2), 143-159. <https://doi.org/10.1111/een.12986>

**Arbetman, M.; Gleiser, G.; Morales, C.; Williams, P. & Aizen, M.** (2017). Global decline of bumblebees is phylogenetically structured and inversely related to species range size and pathogen incidence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284, 20170204. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0204>

**Arbetman, M.; Meeus, I.; Morales, C.; Aizen, M. & Smagghe, G.** (2013). Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biological Invasions*, 15, 489-494.

**Arbulo, N.; Santos, E.; Salvarrey, S. & Invernizzi, C.** (2011). Proboscis length and resource utilization in two uruguayan bumblebees: *Bombus atratus* Franklin and *Bombus bellicosus* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical entomology*, 40, 72-77. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000100010>

**Arbulo, N.; Antúnez, K.; Salvarrey, S.; Santos, E.; Branchiccela, B.; Martín-Hernández, R.; Higes, M. & Invernizzi, C.** (2015). High prevalence and infection levels of *Nosema ceranae* in bumblebees *Bombus atratus* and *Bombus bellicosus* from Uruguay. *Journal of Invertebrate Pathology*, 130, 165-168. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.018>

**Arretz, P.V. & Macfarlane, R.P.** (1986). The Introduction of *Bombus ruderatus* to Chile for red clover pollination. *Bee World*, 67(1), 15-22. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1986.11098855>

**Baden, A.L.** (2019). A description of nesting behaviors, including factors impacting nest site selection, in black and white ruffed lemurs (*Varecia variegata*). *Ecology and Evolution*, 9(3), 1010–1028. Portico. <https://doi.org/10.1002/ece3.4735>

**Basualdo, M.; Cavigliasso, P.; Avila, R.S. Jr.; Aldea-Sánchez, P.; Correa-Benítez, A.; Martínez Harms, J.; Ramos, A.K.; Rojas-Bravo, V. & Salvarrey, S.** (2022). Current status and economic value of insect pollinated dependent crops in Latin America. *Ecological Economics* 196 (2022) 107395. 0921-8009/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2022.107395>

**Bates, D.; Maechler, M.; Bolker, B. & Walker, S. (2015).** Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01.

**Batra, S. (1982).** Biological control in agroecosystems. *Science*, 215, 134-139.

**Baker, H.G. & Baker, I. (1979).** Sugar ratios in nectars. *Phytochem. Bull.* 12: 43-45.

**Benton, M.J. (1999).** Early origins of modern birds and mammals: molecules vs. morphology. *BioEssays*, 21(12), 1043–1051. doi:10.1002/(sici)1521-1878(199912)22:1<1043:aid-bies8>3.0.co;2-b

**Bradbeer, N. (2005).** La apicultura y los medios de vida sostenibles. Dirección de Sistemas de Apoyo a la Agricultura, FAO. <https://www.fao.org/3/y5110s/y5110s00.htm>

**Brothers, D.J. (2019).** Aculeate Hymenoptera: Phylogeny and Classification. In: Starr, C. (eds) *Encyclopedia of Social Insects*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-90306-4\\_1-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-90306-4_1-1)

**Bossert, S.; Murray, E.A.; Almeida, E.A.B.; Brady, S.G. & Blaimer, B.B. (2018).** Combining transcriptomes and ultraconserved elements to illuminate the phylogeny of Apidae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 130:121– 131.

**Buchmann, S.L. (1983).** Buzz pollination in angiosperms. *Handbook of experimental pollination biology*. In: Jones, C.E. & Little R.J. (Eds.). Van Nostrand-Rheinhold.

**Cameron, S.A. & Jost, M.C. (1998).** Mediators of dominance and reproductive success among queens in the cyclically polygynous Neotropical bumble bee *Bombus atratus* Franklin. *Insectes sociaux*. 45 (1998) 135 – 149.0020-1812/98/020135-15 \$ 1.50+0.20/0 © Birkhäuser Verlag, Basel.

**Cameron, S.A.; Whitfield, J.B.; Cohen, M. & Thorp, N. (1999).** Novel use of walking trails by the amazonian bumble bee, *Bombus transversalis* (Hymenoptera: Apidae). Byers, G.W.; Hagen, R.H. & Brooks, R.W. (eds.). *Entomological Contributions in Memory of Byron, A. A.*; University of Kansas Natural History Museum Special Publication 24. Pp. 187-193.

**Cavigliasso, P.; Basualdo, M.; Monzon, N.O.; Challiol, C.; Lare, M.V.; Rivadeneira, M.F. & Gennari, G.P. (2019).** Polinización de arándano con *Bombus atratus* y *Apis mellifera*. E.E.A. INTA

Concordia. <https://inta.gov.ar/documentos/polinizacion-de-arandano-con-bombus-atratus-y-apis-mellifera>

**Cerda, J.; Vera, C. & Rada, G.** (2013). Odds ratio: aspectos teóricos y prácticos. *Rev. Médica de Chile*, 141 (10), 1329-1335. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872013001000014>

**Chacoff, N.; Morales, C.; Lucas, Garibaldi, L.; Ashworth, L. & Aizen, M.** (2010). Pollinator dependence of argentinean agriculture: Current status and temporal analysis. *Am. J. Plant Sci. Biotechnol.*, 3.

**Chen, Y.; Hansen, L.D., & Brown, J.J.** (2002). Nesting Sites of the Carpenter Ant, *Camponotus vicinus* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae) in Northern Idaho. *Environmental Entomology*, 31(6), 1037–1042. doi:10.1603/0046-225x-31.6.1037

**Cnaani, J.; Robinson G.E. & Hefetz A.** (2000). The critical period for caste determination in *Bombus terrestris* and its juvenile hormone correlates. *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 186(11):1089–1094 DOI 10.1007/s003590000.

**Cnaani, J.; Schmid-Hempel, R. & Schmidt, J.O.** (2002). Colony development, larval development and worker reproduction in *Bombus impatiens* Cresson. *Insectes Sociaux* 49 (2002) 164–170. © Birkhäuser Verlag, Basel, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00040-002-8297-8>

**Collias, N.E.** (1964). The evolution of nests and nest-building in birds. *American Zoologist* 4(2): 175–190.

**Couvillon, M.J.; Fitzpatrick, G. & Dornhaus, A.** (2010). Ambient air temperature does not predict whether small or large workers forage in bumble bees (*Bombus impatiens*). *Psyche* (Camb Mass). 2010;2010:536430. doi: 10.1155/2010/536430. PMID: 26005222; PMCID: PMC4440703.

**Crone, E.E. & Williams. N.M.** (2016). Bumble bee colony dynamics: quantifying the importance of land use and floral resources for colony growth and queen production. *Ecology Letters*, 19: 460–468. Doi: 10.1111/ele.12581

**Cruz, J.P.; Escobar, A.; Cure, J. & Almanza, M.** (2008). Implementación de mejoras para la cría en cautiverio de colonias del abejorro nativo *Bombus pauloensis* (= *B. atratus*) (Hymenoptera: Apoidea). Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, ISSN 1900-4699, Vol. 4, Vol. 1, 2008, pags. 70-83.

**Dafni, A.; Kevan, P.; Gross, C. & Goka, K.** (2010). *Bombus terrestris*, pollinator, invasive and pest: An assessment of problems associated with its widespread introductions for commercial purposes. Applied Entomology and Zoology - APPL ENTOMOL ZOOL, 45, 101-113.  
<https://doi.org/10.1303/aez.2010.101>

**Dainese, M.; Martin, E.A.; Aizen, M.A.; Albrecht, M.; Bartomeus, I.; Bommarco, R. & Ghazoul, J.** (2019). A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. Sci. Adv. 5 (10), eaax0121.

**Danforth, B.N.; Cardinal, S.; Paz, C.E.; Almeida, A.B. & Michez, D.** (2013). The impact of molecular data on our understanding of bee phylogeny and evolution. Annual Review of Entomology 58: 57-78.

**Danforth, B.N.; Minckley, R.L. & Neff, J.L.** (2019). The Solitary Bees: Biology, Evolution, Conservation. Princeton University Press, 472. <https://doi.org/10.2307/j.ctvd1c929>

**Delaplane, K.S.** (1995). Bumble beekeeping: the queen starter box. American Bee Journal 135: 743-745.

**Delaplane, K.S.** (1996). Bumble beekeeping: inducing queens to nest in captivity. American Bee Journal 136: 42-43

**Devebec, A.H.; Cardinal, S. & Danforth, B.N.** (2012). Identifying the sister group to the bees: a molecular phylogeny of Aculeata with an emphasis on the superfamily Apoidea. Zoologica Scripta 41(5): 527-535.

**Dias, D.** (1960). Nota sobre um ninho de *Bombus* construido acima do chao. (Hymenoptera, Apoidea). Ibid. 9: 151-156.

**Díaz, S.A.; Argüello, A.; Alfaro, G.; Kirschbaum, D.S. & Gennari, G.P.** (2013). Efecto polinizador de *Bombus atratus* sobre arándanos (*Vaccinium* sp.) en la provincia de Tucumán. XXXVI Congreso Argentino de Horticultura.

**Díaz, S.A.; Roger, S.L.; Yacumo, D.M.; Kirschbaum, D.S. & Gennari, G.P.** (2013). Efecto polinizador de *Bombus atratus* sobre Frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.) en la provincia de Tucumán. XXXVI Congreso Argentino de Horticultura.

**Duchateau, M.J.** (1985). Analysis of some methods for rearing bumblebees colonies. *Apidologie*, 16, 225-227.

**Engel, M.S.** (2001). Three new *Habralictellus* bee species from the Caribbean (Hymenoptera: Halictidae). *Solenodon*, 1, 33-37.

**Estay Palacios, P.** (2007). *Bombus* en Chile: Especies, biología y manejo. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/3508>

**Estravis Barcala, M.C.; Palottini, F.; Macri, I. & Farina, W.M.** (2018). Comparando la actividad recolectora de la abeja *Apis mellifera* y el abejorro *Bombus atratus*, en un cultivo de arándano *Vaccinium corymbosum*. X Congreso Argentino de Entomología, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

**Evans, E.; Burns, I. & Spivak, M.** (2007). *Befriending Bumble Bees: A Practical Guide to Raising Local Bumble Bees*. St. Paul, MN: University of Minnesota Extension Service. <https://hdl.handle.net/11299/51331>

**FAO.** (2020). Productos de la colmena. <https://www.fao.org/publications/card/es/c/CA8049ES/>

**Farji-Brener, A. & Corley, J.** (1998). Successful invasions of hymenopteran insects into NW Patagonia. 8, 237-249.

**Fries, I.; Ruijter, A.; Paxton, R.J.; Silva, A.J.; Slemenda, S.B. & Pieniasek, N.J.** (2001). Molecular characterization of *Nosema bombi* (Microsporidia: Nosematidae) and a note on its sites of infection in *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apoidea). *J. Apicult. Res.*, 40: 91-96. <http://dx.doi.org/10.1080/0>

0218839.2001.11101056

**Fuentes-Montemayor, E. & Madrid, A.** (2003). Biología de *Bombus ephippiatus* Say (Hymenoptera, Apidae).

**Fussell, M. & Corbet, S.A.** (1991). Forage for bumble bees and honey bees in farmland: A case study. *Journal of Apicultural Research*, 30(2), 87-97. <https://doi.org/10.1080/00218839.1991.11101239>

**Garbuzov, M.; Alton, K. & Ratnieks, F.L.** (2017). Most ornamental plants on sale in garden centres are unattractive to flower-visiting insects. *PeerJ*. 2017 Mar 7;5:e3066. doi: 10.7717/peerj.3066. PMID: 28286716; PMCID: PMC5344017.

**García-Mata, S.; Rosas-Espinoza, V.C.; Santiago-Pérez, A.L.; Villareal, J. & Villavicencio, R.** (2012). Caracterización de las madrigueras de la tuza *Pappogeomys bulleri* en sierra de Quila, Jalisco, México. *Estudios sobre la biología de roedores silvestres mexicanos*, Ballesteros, B.C. & Cervantes, F.A. (eds). Instituto de Biología, UNAM y Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalpa. México, D.F. p. 185-194.

**Garibaldi, L.A.; Steffan-Dewenter I.; Winfree R.; Aizen, M.A. & Bommarco, R.** (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* 339(6127):1608–1611

**Garófalo, C.A.** (1978). Bionomics of *Bombus* (Fervidobombus) *Morio*. Body size and length of life of workers. *Journal of Apicultural Research*, 17(3), 130-136. <https://doi.org/10.1080/00218839.1978.11099918>

**Garófalo, C.A.** (1979). Observações preliminares sobre a fundação solitária de colônias de *Bombus* (Fervidobombus) *atratus* Franklin (Hymenoptera, Apidae). *Boletim de Zoologia*, 4, 53. <https://doi.org/10.11606/issn.2526-3358.bolzoo.1979.121826>

**Garófalo, C.A.** (1980). Aspectos bionómicos de *Bombus* (Fervidobombus) *morio* (Swederus). III: Tamanho das operárias e desenvolvimento da colônia (Hymenopter, Apidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 40 (2): 345-348, Maio, 1980 - Rio de Janeiro, RJ.

**Garófalo, C.A.; Zucchi, R. & Muccillo, G.** (1986). Reproductive studies of a neotropical Bumblebee, *Bombus atratus* (Hymenoptera, Apidae). Rev. Brasil. Genet. IX, 2, 231-243 (1986). (Brazil J. Genetics).

**Génissel, A.; Aupinel, P.; Bressac, C.; Tasei, J.N. & Chevrier, C.** (2002). Influence of pollen origin on performance of *Bombus terrestris* micro-colonies. Entomologia Experimentalis et Applicata 104: 329–336. © 2002 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

**Giraud, M.; Cariou, B.; Henrion, M.; Baird, E. & Gérard, M.** (2021). Higher developmental temperature increases queen production and decreases worker body size in the bumblebee *Bombus terrestris*. Journal of Hymenoptera Research, 88: 39–49 (2021). doi: 10.3897/jhr.88.73532 <https://jhr.pensoft.net>

**Gobierno de Argentina.** (2021). Gestión integral de especies exóticas invasoras y potencialmente invasoras. Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible. <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resoluci%C3%B3n-109-2021-348718/texto>

**Goka, K.; Okabe, K.; Yoneda, M. & Niwa, S.** (2001). Bumblebee commercialization will cause worldwide migration of parasitic mites. Molecular Ecology, 10, 2095-2099. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01323.x>

**González, V.H.; Mejía, A. & Rasmussen, C.** (2004). Ecology and Nesting Behavior of *Bombus atratus* Franklin in Andean Highlands (Hymenoptera: Apidae). Journal of Hymenoptera Research. Vol. 13(2), 2004, pp. 234-242. <https://www.researchgate.net/publication/252644618>

**González, V.H.; Oyen, K.; Aguilar, M.L.; Herrera, A.; Martín, R.D. & Ospina, R.** (2022). High thermal tolerance in high-elevation species and laboratory-reared colonies of tropical bumble bees. Ecology and Evolution. 2022; 12: e 9560. <https://doi.org/10.1002/ece3.9560>

**Goulson D.** (2003). Effects of introduced bees on native ecosystems. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 34:1–26

Goulson, D.; Lye, G.C. & Darvill, B. (2008). Decline and conservation of bumble bees. Annual review of entomology, 53, 191-208. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.53.103106.093454>

**Goulson, D.** (2010). Bumblebees, behaviour, ecology and conservation (Second Edition). Oxford University Press. ISBN 978-0-19-955306-8 (Hbk.)

**Goulson, D.; Nicholls, E.; Botías, C. & Rotheray, E.** (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. Science, 347, 1-16.

**Graystock, P.; Yates, K.; Darvill, B.; Goulson, D. & Hughes, W.** (2013). Emerging dangers: Deadly effects of an emergent parasite in a new pollinator host. Journal of invertebrate pathology, 114. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2013.06.005>

**Gretenkord C.** (1997). Laborzucht der Dunklen Erdhummel *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) und toxikologische Untersuchungen unter Labor- und Halbfreilandbedingungen. Doctoral dissertation. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Germany.

**Griffin, R.P.; Macfarlane, R.P. & van den Ende, H.J.** (1991). Rearing and domestication of long tongued bumble bees in New Zealand. Acta Horticulturae, 288, 149-153. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1991.288.19>

**Gurel, F. & Gosterit, A.** (2008). Effects of different stimulation methods on colony initiation and development of *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) queens. Appl. Entomol. Zool. 43 (1): 113–117 (2008). <http://odokon.org/>

**Hannan, M.A.; Hoshikawa, K. & Maeta, Y.** (1998). Feeding behavior and food consumption in *Bombus* (*Bombus*) *ignitus* under artificial condition (Hymenoptera: Apidae). Entomological Science, 1, 27-32.

**Hartig, F.** (2022). DHARMA: Residual diagnostics for hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.5. <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>

**Heinrich, B.** (1979). Bumblebee Economics. Cambridge (Massachusetts), 245 pp.

**Heinrich, B.** (2004) *Bumblebee Economics*. Harvard University Press, Cambridge. ISBN 9780674016392

**Hines, H.M.; Cameron, S.A. & Deans, A.R.** (2007). Nest architecture and foraging behavior in *Bombus pullatus* (Hymenoptera: Apidae), with comparisons to other tropical bumble bees. *Journal of the Kansas entomological society* 80(1), 2007, pp. 1-15.

**Hingston, A.B. & McQuillan, P.B.** (1998). Does the recently introduced bumblebee *Bombus terrestris* (Apidae) threaten Australian ecosystems? *Australian Journal of Ecology*, 23(6), 539-549. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1998.tb00764.x>

**Hingston, A.B. & McQuillan, P.** (1999). Displacement of tasmanian native megachilid bees by the recently introduced bumblebee *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae). *Australian Journal of Zoology*, 47, 59-65. <https://doi.org/10.1071/ZO98016>

**Hingston, A.B.; Marsden-Smedley, J.; Driscoll, D.A.; Corbett, S.; Fenton, J.; Anderson, R.; Plowman, C.; Mowling, F.; Jenkin, M.; Matsui, K.; Bonham, K.J.; Ilowski, M.; McQuillan, P.B.; Yaxley, B.; Reid, T.; Storey, D.; Poole, L.; Mallick, S.A.; Fitzgerald, N. & Desmarchelier, J.M.** (2002). Extent of invasion of tasmanian native vegetation by the exotic bumblebee *Bombus terrestris* (Apoidea: Apidae). *Austral Ecology*, 27(2), 162-172. <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2002.01179.x>

**Hoffman, W.R.E.; Torres, A. & Neumann, P.** (2004). A scientific note on the nest and colony development of the Neotropical bumble bee *Bombus (Robustobombus) melaleucus*. *Apidologie* 35 (2004) 449–450 © INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences, 2004 DOI: 10.1051/apido:2004011

**Holmberg, E.L.** (1879). Sobre las especies del género *Bombus* halladas en la República Argentina. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, 8, 154-162.

**Hudson, W.H.** (1892). *Humblebees and other matters* (Vol. vii). London, Chapman & Hall.

**Imran, M.; Ahmad, M.; Naeem, M.; Nasir, M.F.; Bodlah, I.; Nasir, M. & Sheikh, U.A.A.** (2017). Effect of different types of boxes on rearing of Bumble Bee, *Bombus terrestris*. *Pakistan J. Zool.*, vol. 49

(1), pp 169-174,2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.1.169.174>

**Inari, N.; Nagamitsu, T.; Kenta, T.; Goka, K. & Hiura, T.** (2004). Spatial and temporal pattern of introduced *Bombus terrestris* abundance in Hokkaido, Japan, and its potential impact on native bumblebees. *Population Ecology*, 47, 77-82.

**Inoue, M.; Yokoyama, J. & Washitani, I.** (2008). Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*, 12, 135-146. <https://doi.org/10.1007/s10841-007-9071-z>

**Janvier, H.** (1955). Le nid et le nidification de quelques abeilles des Andes tropicales. *Annales des Sciences Naturelles: Zoologie archives*, 17, 311-349.

**Javorek, S.; Mackenzie, K. & Kloet, S.** (2009). Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on Lowbush blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). *Annals of the Entomological Society of America*, 95, 345-351. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0345:CPEABH\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0345:CPEABH]2.0.CO;2)

**Karbassioon, A.; Yearlsey, J.; Dirilgen, T.; Hodge, S.; Stout, J.C. & Stanley, D.A.** (2023). Responses in honeybee and bumblebee activity to changes in weather conditions. *Behavioral Ecology. Oecologia* <https://doi.org/10.1007/s00442-023-05332-x>

**Katayama, E.** (1973). Observations on the brood development in *Bombus ignitus* (Hymenoptera, Apidae). II. Brood development and feeding habits: 203-216.

**Kearns, C.A.; Inouye, D.W. & Waser, N.M.** (1998). Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 83-112. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.83>

**Kenna, D.; Pawar, S. & Gill, R.J.** (2021). Thermal flight performance reveals impact of warming on bumblebee foraging potential. *Functional Ecology on behalf of British Ecological Society*. 2021;35:2508–2522. DOI: 10.1111/1365-2435.13887

**Klein, A.; Vaissière, B.; Cane, J.; Steffan-Dewenter, I.; Cunningham, S.; Kremen, C. & Tscharntke, T.** (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 274, 303-313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>

**Kremen, C.; Williams, N.; Bugg, R.; Fay, J. & Thorp, R.** (2004). The area requirements of an ecosystem service: Crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters*, 7, 1109-1119. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00662.x>

**Kwon, Y.J. & Saeed, S.** (2003). Effect of temperature on the foraging activity of *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) on greenhouse hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Applied Entomology and Zoology*, 38, 275-280. <https://doi.org/10.1303/aez.2003.275>

**Kwon, Y.J.; Saeed, S. & Duchateau, M.J.** (2003). Stimulation of colony initiation and colony development in *Bombus terrestris* by adding a male pupa: The influence of age and orientation. *Apidologie*, 34: 429-437. <https://doi.org/10.1051/apido:2003039>

**Laroca, S.** (1972). Sobre a bionomia de *Bombus brasiliensis* (Hymenoptera, Apoidea). *Acta Biológica Paranaense*, 1 (1/2): 7-28, 1972.

**Laroca, S.** (1976). Sobre a bionomia de *Bombus morio* (Hymenoptera, Apoidea). *Acta Biológica Paranaense*, 5. <https://doi.org/10.5380/abpr.v5i0.904>

**Laverty, T.M. & Plowright, R.C.** (1985). Comparative bionomics of temperate and tropical bumble bees with special reference to *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). *The Canadian Entomologist*, 117(4), 467-474. Cambridge Core. <https://doi.org/10.4039/Ent117467-4>

**Lee, S.B.; Choe, Y.C.; Park, K.H.; Ha, N.G.; Hwang, S.J. & Kim, S.R.** (2012). Comparison of the pollination activities among honeybee, *Apis mellifera*, and bumblebees, *Bombus ignitus* and *B. terrestris* in the watermelon houses on summer season. *Journal of Sericultural and Entomological Science*, 50(2), 41-47. <https://doi.org/10.7852/JSES.2012.50.2.41>

**Lee K.Y.; Yim S.H.; Seo H.J.; Kim S.Y. & Yoon H.J.** (2016). Comparison of pollination activities

between honeybee (*Apis mellifera* L.) and bumblebee (*Bombus terrestris* L.) during the flowering period of Asian pear (*Pyrus pyrifolia* N.) under variable weather conditions. Korean J. Apic 32(4):303-314. <https://doi.org/10.17519/apiculture.2017.11.32.4.303>

**Li, J.; Chen, W.; Wu, J.; An, J.; Schmid-Hempel, P. & Schmid-Hempel, R.** (2011). Diversity of *Nosema* associated with bumblebees (*Bombus* spp.) from China. International Journal for Parasitology, 42, 49-61. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.10.005>

**Liczner, A.R. & Colla, S.R.** (2019). A systematic review of the nesting and overwintering habitat of bumble bees globally. Journal of Insect Conservation (2019) 23:787–801 <https://doi.org/10.1007/s10841-019-00173-7>

**Lüdecke, D.** (2018). ggeffects: Tidy data frames of marginal effects from regression models. The Journal of Open Source Software. 3(26). 772. doi: 10.21105/joss.00772.

**Lüdecke, D.; Ben-Shachar, M.; Patil, I.; Waggoner, P. & Makowski, D.** (2021). Performance: an R package for assessment, comparison and testing of Statistical Models. Journal of Open Source Software. 6(60). 3139. doi:10.21105/joss.03139.

**Macfarlane, R.P. & Gurr, L.A.** (1995). Distribution of bumble bees in New Zealand. New Zealand Entomologist, 18, 29-36. <https://doi.org/10.1080/00779962.1995.9721999>

**Madjidian, J.; Morales, C.L. & Smith, H.G.** (2008). Displacement of a native by an alien bumblebee: lower pollinator efficiency overcome by overwhelmingly higher visitation frequency. Oecologia, Springer-Verlag 2008 DOI 10.1007/s00442-008-1039-5

**Martins, A.; Silva, D.; de Marco Júnior, P. & Melo, G.** (2015). Species conservation under future climate change: The case of *Bombus bellicosus*, a potentially threatened South American bumblebee species. Journal of Insect Conservation, 19, 33-43. <https://doi.org/10.1007/s10841-014-9740-7>

**Matos, E.V.S. & Garófalo, C.A.** (1995). Observations on the development of queenless colonies of *Bombus atratus* (Hymenoptera, Apidae). Journal of Apicultural Research, 34(4), 177-185.

<https://doi.org/10.1080/00218839.1995.11100903>

**Matos, E.V.S. & Garófalo, C.** (2000). Worker life tables, survivorship, and longevity in colonies of *Bombus* (Fervidobombus) *atratus* (Hymenoptera: Apidae). *Revista de Biología Tropical*, 48, 657-663.  
<https://doi.org/10.15517/rbt.v48i2-3.18835>

**Matsumura, C.; Yokoyama, J. & Washitani, I.** (2003). Invasion status and potential ecological impacts of an invasive alien bumblebee, *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) naturalized in Southern Hokkaido, Japan. *Global Environmental Research*, 8.

**McLendon, A.K.** (2019). Classics Revisited: “The evolution of nests and nest-building in birds”, by Dr Collias Nicholas E. (1964) *American Zoologist* 4(2): 175–190. *Progress in Physical Geography: Earth and Environment*, 030913331984189. doi:10.1177/0309133319841897

**MGAP.** (2015). Regiones agropecuarias del Uruguay. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca de Uruguay. [mgap.gub.uy/dieaanterior/regiones/regiones2015.pdf](http://mgap.gub.uy/dieaanterior/regiones/regiones2015.pdf)

**Michener, C.D.** (1974). *The Social Behavior of the Bees: A Comparative Study*. The Belknap Press of Harvard University Press.

**Michener, C.D.** (2000). *The Bees of the World*. The Johns Hopkins University Press Baltimore and London.

**Michener, C.D.** (2007). *The Bees of the World* (Second edition, Vol. 78). The John Hopkins University Press.

**Mirocha, P.; Buchmann, S. & Nabhan, G.** (1996). *The forgotten pollinators*. Bibliovault OAI Repository, The University of Chicago Press.

**Montalva, J.; Kalin, M. & Ruz, L.** (2008). *Bombus terrestris* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae: Bombini) en Chile: causas y consecuencias de su introduccion. *Revista del Jardín Botánico Chagual*, 8: 13-23

**Morales, C.L. & Aizen, M.A.** (2006). Informe sobre la Solicitud de Autorización de Importación

de *Bombus impatiens* a Argentina [Reporte de riesgo]. SENASA.

**Morales, C.L.** (2007). Introducción de abejorros (*Bombus*) no nativos: causas, consecuencias ecológicas y perspectivas. *Ecología Austral*, 17(1), 51-65.  
[https://ojs.ecologiaaustral.com.ar/index.php/Ecologia\\_Austral/article/view/1422](https://ojs.ecologiaaustral.com.ar/index.php/Ecologia_Austral/article/view/1422)

**Morales, C.L.; Arbetman, M.; Cameron, S. & Aizen, M.** (2013). Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11, 529-534.  
<https://doi.org/10.1890/120321>

**Morales Rozo, C.; Rojas Prieto, D.L. & Cure Hakim, J.R.** (2006). Actividad forrajera de un nido silvestre de *Bombus atratus* Franklin (Hymenoptera: Apidae) en la sabana de Bogotá. Nates Parra G.; Parra, H.A. (Eds.) 2006. Libro de Memorias III Encuentro Colombiano sobre Abejas Silvestres. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Santa Marta, Colombia.

**Moure, J.S. & Sakagami, S.F.** (1962). As mamangabas sociais do Brasil (*Bombus* Latreille) (Hymenoptera, Apoidea). *Studia Entomol.*, 5, 65-194.

**Naciones Unidas.** (2021). Día Mundial de las Abejas—20 de mayo.  
<https://www.un.org/es/observances/bee-day>

**Nasir, M.; Mohsan, A.; Ahmad, M.; Saeed, S.; Aziz, M.A.; Imran, M. & Aslam Sheikh, U.A.** (2019). Effect of different temperatures on colony characteristics of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Pakistan J. Zool.*, vol. 51(4), pp 1315-1322, 2019. DOI:  
<http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2019.51.4.1315.1322>

**Nielsen, A.; Reitan, T.; Rinvoll, A.W. & Brysting A.K.** (2017) Effects of competition and climate on a crop pollinator community. *Agr. Ecosyst. Environ.* 246:253–260. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.006>

**O'Donnell, S. & Foster, R.L.** (2001). Thresholds of response in nest thermoregulation by worker bumble bees, *Bombus bifarius nearcticus* (Hymenoptera: Apidae). *Ethology* 107, 387-399.

**Olesen, J.M.** (1989). Behaviour and nest structure of the Amazonian *Bombus transversalis* in Ecuador. *Journal of Tropical Ecology* (1989) 5:243-246

**Oliveira de, M.O.; Cavalcante, M.C. & Freitas, B.M.** (2015). Nesting behavior and colony description of the Neotropical *Bombus* (Thoracobombus) *brevivillus* in Northeastern Brazil. *J. Insect. Behav.* (2015) 28:297–302. DOI 10.1007/s10905-015-9502-8

**Orr, M.C.; Jakob, M.; Harmon-Threatt, A. & Mupepele, A.C.** (2022). A review of global trends in the study types used to investigate bee nesting biology. *Basic and Applied Ecology*, Volume 62, 2022, Pages 12-21, ISSN 1439-1791, <https://doi.org/10.1016/j.baae.2022.03.012>.

**Osborne, J.L.; Martin, A.P.; Shortall, C.R.; Todd, A.D.; Goulson, D.; Knight, M.E.; Hale, R.J. & Sanderson, R.A.**(2008). Quantifying and comparing bumblebee nest densities in gardens and countryside habitats. *J. Appl. Ecol.* 45:784–792. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2007.01359.x>

**Owen R.E.** (2016). Cría de abejorros con fines de investigación y ganancias: consideraciones prácticas y éticas. *Apicultura y conservación de las abejas: avances en la investigación en tecnología.* <http://dx.doi.org/10.5772/63048>.

**Palma, G.; Quezada-Euán, J.J.G.; Reyes-Oregel, V.; Meléndez, V. & Moo-Valle, H.** (2008). Production of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) using *Nannotrigona perilampoides*, *Bombus impatiens* and mechanical vibration (Hymenoptera: Apoidea). *Journal compilation* © 2008 Blackwell Verlag, Berlin, *J. Appl. Entomol.* 132 (2008) 79–85. © 2008. doi: 10.1111/j.1439-0418.2007.01246.x

**Pacateque, J.; Cruz, P.; Aguilar, M.L. & Cure J.R.** (2012). Efecto de alimentación vía bolsillo en etapas tempranas del desarrollo de *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae). *Revista Colombiana de Entomología* 38 (2): 343-346 .

**Peat, J. & Goulson, D.** (2005) Effects of experience and weather on foraging rate and pollen versus nectar collection in the bumblebee, *Bombus terrestris*. *Behaviour Ecology Sociobiol.* (2005) 58:

152–156 DOI 10.1007/s00265-005-0916-8

**Peat, J.; Darvill, B.; Ellis, J. & Goulson, D.** (2005). Effects of climate on intra and interspecific size variation in bumble-bees. *Functional Ecology* (2005) 19, 145–151. British Ecological Society.

**Pelletier, L. & McNeil, J.N.** (2003). The effect of food supplementation on reproductive success in bumblebee field colonies. *OIKOS*, Volume103, Issue3, December 2003, pp. 688-694. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12592.x>

**Pérez, V.** (2013). Introducción de *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae) en la región de Magallanes: potencial riesgo para las abejas nativas. *Anales Del Instituto De La Patagonia*, 41, 147-152. <https://doi.org/10.4067/S0718-686X2013000100015>

**Pérez-Méndez, N., Andersson, G.K.S., Requier, F., Hipólito, J., Aizen, M.A., Morales, C.L., García, N., Gennari, G.P. & Garibaldi, L.A.** (2020). The economic cost of losing native pollinator species for orchard production. *Journal of Applied Ecology*, 57(3), 599-608. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13561>

**Pitts-Singer, T.L. & Cane, J.H.** (2011). The alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*: The world's most intensively managed solitary bee. *Annual review of entomology*, 56, 221-237.

**Plath, O.E.** (1923). Breeding experiments with confined *Bremus* (*Bombus*) queens. *The Biological Bulletin*, 45(6), 325-341. <https://doi.org/10.2307/1536729>

**Plischuk, S. & Lange, C.** (2009). Invasive *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) parasitized by a flagellate (Euglenozoa: Kinetoplastea) and a neogregarine (Apicomplexa: Neogregarinorida). *Journal of invertebrate pathology*, 102, 263-265. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.08.005>

**Plischuk, S.; Salvarrey, S.; Arbulo, N.; Skevington, J.; Kelso, S.; Revainera, P.; Maggi, M.; Invernizzi, C.; Lange, C. & Santos, E.** (2016). Pathogens, parasites, and parasitoids associated with bumble bees (*Bombus* spp.) from Uruguay. *Apidologie*, 48. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0474-2>

**Plowright, R.C. & Jay, S.C.** (1966). Rearing bumble bee colonies in captivity. *Journal of*

Apicultural Research, 5(3), 155-165. <https://doi.org/10.1080/00218839.1966.11100149>

**Prys-Jones, O.E. & Corbet, S.A.** (1987). Bumblebees (Naturalists' Handbooks 6). 1<sup>st</sup> edition. Cambridge University Press. ISBN 9780521259750 / 0521259754

**Ptacek, V.** (2001). Some biological aspects of bumble bee (*Bombus*, Hymenoptera) management. Proc. 8th Pollination Symp. Eds. P. Benedek & K.W. Richards Acta Hort. 561, ISHS 2001

**Ptacek, V. & Drobna, J.** (2006). Cría y uso de los abejorros para la polinización de los recursos genéticos de legumbres forrajeras. Segundas Jornadas de Polinización en Plantas Hortícolas, 124-138.

**Ptacek, V.; Votavová, A. & Komzáková, O.** (2015). Experience in rearing common carder bees (*Bombus pascuorum* Scop.), with some notes on three similar species: shrill carder bee (*B. sylvarum* L.), red-shanked carder bee (*B. ruderarius* Müll.), and brown-banded carder bee (*B. humilis* Ill.) (Hymenoptera: Apidae). Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. Volume 63: 169 Number 5, 2015. <http://dx.doi.org/10.11118/actaun201563051535>

**R Core Team** (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

**Rasmussen, C.** (2009). Diversity and abundance of orchid bees (Hymenoptera: Apidae, Euglossini) in a tropical rainforest succession. Neotropical Entomology, 38: 66-73.

**Riaño, D.; Veloza, M.; Cure, J.R. & Almanza, M.T.** (2014). Desarrollo de dos colonias de *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) mantenidas bajo dos modos de alimentación. Universidad Militar de Nueva Granda, ISSN 1900-4699, Volumen 10, Número 2, Páginas 132-141 .

**Riaño, D.; Guerrero, M.; Alarcón, P. & Cure, J.R.** (2020). Effects of climate variability on queen production and pollen preferences of neotropical bumblebee *Bombus atratus* in a High Andean suburban condition. Neotropical Entomology 49(4):586-594. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00758-6>.

**Ribeiro, M.; Duchateau, M.J. & Velthuis, H.** (1996). 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* 27 (1996) 133-144.  
<https://doi.org/10.1051/apido:19960302>

**Richards, K.W.** (1975). Population ecology of bumblebees in southern Alberta [Ph.D. dissertation]. University of Kansas, Lawrence.

**Richards, M.; Wettberg, E. & Rutgers, A.** (2003). A novel social polymorphism in a primitively eusocial bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 7175-7180. <https://doi.org/10.1073/pnas.1030738100>

**Roig Alsina, A.R. & Aizen, M.A.** (1996). *Bombus ruderatus* Fabricius, un nuevo *Bombus* para la Argentina (Hymenoptera: Apidae). *Physiology*, 5, 49-50.

**Rojas D.L.; Vecil D.; Almanza M.T. & Cure J.R.** (2003). Desarrollo, patrón de construcción y forma de alimentación en colonias de *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) criadas en cautiverio. Resúmenes XXX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Cali Colombia.

**Rojas D.** (2006). Dinámica de crecimiento de una colonia de *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) en condiciones de cautiverio y en condiciones de campo en un cultivo de lulo (*Solanum quitoense* Lam) var. septentrionale bajo poli sombra. Tesis de grado para obtener el título de Biólogo. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá.

**Rojas Prieto, D.L. & Cure, J.R.** (2012). Desarrollo de Colonias de *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) en Cautiverio Durante la Etapa Subsocial. *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 8(1), 28-33.  
<https://doi.org/10.18359/rfcb.2093>

**Röseler, P.F.** (1977). Endocrine control of polymorphism in bumblebees. *Proc. VIII Int. Congr. I.U.S.S.I.*, 22-23.

**Röseler, P.F.** (1985). A technique for year-round rearing of *Bombus terrestris* (Apidae, Bombini) colonies in captivity. *Apidologie*, 16, 165-170.

**Rossi, N.; Santos, E.; Salvarrey, S.; Arbulo, N. & Invernizzi, C.** (2015). Determination of flower constancy in *Bombus atratus* Franklin and *Bombus bellicosus* Smith (Hymenoptera: Apidae) through palynological analysis of nectar and corbicular pollen loads. *Neotropical Entomology*, 44. <https://doi.org/10.1007/s13744-015-0322-5>

**Roubik, D.W.** (1989). *Bee Biology: Ecology and Natural History of Tropical Bees* (Vol. 248). Cambridge University Press, New York. <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.248.4958.1026>

**Roubik, D.W.** (2006). Stingless bee nesting biology. *Apidologie*, 37(2), 124–143. doi:10.1051/apido:2006026

**R Studio Team** (2015). *R Studio Integrated Development for R*. R Studio, Inc., Boston, MA (Computer Software v0. 98.1074)

**Ruz, L. & Herrera, R.** (2001). Preliminary observations on foraging activities of *Bombus dahlbomii* and *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) on native and non-native vegetation in Chile. *Acta Horticulturae*, 165-169. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.561.24>

**Ruz, L.** (2002). Bee Pollinators Introduced to Chile: A Review. En: Kevan P & Imperatriz Fonseca VL (eds). *Pollinating Bees - The Conservation Link Between Agriculture and Nature - Ministry of Environment / Brasília*. p.155-167.

**Ryder, J.T.; Cherrill, A.; Thompson, H.M. & Walters, K.F.A.** (2021). Lower pollen nutritional quality delays nest building and egg laying in *Bombus terrestris audax* micro-colonies leading to reduced biomass gain. *Apidologie*, 2021, 52 (6), pp.1033-1047. 10.1007/s13592-021-00885-3. hal-03794059

**Saez, A.; Morales, C.; Ramos, L. & Aizen, M.** (2014). Extremely frequent bee visits increase pollen deposition but reduce drupelet set in raspberry. *Journal of Applied Ecology*, 51. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12325>

**Saez, A.; Morales, C.; Garibaldi, L. & Aizen, M.** (2017). Invasive bumble bees reduce nectar

availability for honey bees by robbing raspberry flower buds. Basic and Applied Ecology.  
<https://doi.org/10.1016/j.baae.2017.01.001>

**Sakagami, S.F. & Zucchi, R.** (1965). Winterverhalten einer neotropischen Hummel, *Bombus atratus*, innerhalb des Beobachtungskastens. : Ein Beitrag zur Biologie der Hummeln. Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic. 15(4), 712-762. <http://hdl.handle.net/2115/27417>

**Sakagami, S.F.; Akahira, Y. & Zucchi, R.** (1967). Nest architecture and brood development in a neotropical bumblebee, *Bombus atratus*. Insectes Sociaux, Paris. Volume XIV, n°4, pp. 389-414.

**Sakagami, S.F.; Akahira, Y. & Zucchi, R.** (1976). Nest architecture and brood development in a neotropical bumblebee, *Bombus atratus*. Insectes Sociaux, 14, 389-413.

**Sakagami, S.F. & Katayama, E.** (1977). Nests of Some Japanese Bumblebees (Hymenoptera, Apidae). Jour. Pac. Sci. Hokkaido Univ\_ Ber. VI, Zool. 21 (1), 92-153, 1977.  
<http://hdl.handle.net/2115/27633>

**Salvarrey, S.; Arbulo, N.; Santos, E. & Invernizzi, C.** (2013). Cría artificial de abejorros nativos *Bombus atratus* y *Bombus bellicosus* (Hymenoptera, Apidae). 17, 75-82.

**Santos, E.; Arbulo, N.; Salvarrey, S. & Invernizzi, C.** (2017). Distribución de las especies del género *Bombus* Latreille (Hymenoptera, Apidae) en Uruguay. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 76, 22-27. <https://doi.org/10.25085/rsea.761203>

**Schmid-Hempel, P. & Heeb, D.** (1991). Worker mortality and colony development in bumblebees, *Bombus lucorum* (L.)(Hymenoptera, Apidae). Mitteilungen der schweizerischen entomologischen gesellschaft bulletin de lasociété entomologiquessuisse 64, 93-108, 1991. Ein Dienst der ETH-Bibliothek ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, [www.library.ethz.ch](http://www.library.ethz.ch) <http://www.e-periodica.ch>

**Schmid-Hempel, P.** (1998). Parasites in Social Insects (Princeton University Press).

**Schmid-Hempel, R.; Eckhardt, M.; Goulson, D.; Heinzmann, D.; Lange, C.; Plischuk, S.;**

**Escudero, L.R.; Salathé, R.; Scriven, J.J. & Schmid-Hempel, P.** (2014). The invasion of southern South America by imported bumblebees and associated parasites. *Journal of Animal Ecology*, 83(4), 823-837.  
<http://www.jstor.org/stable/24034498>

**Seeley, T.D. & Heinrich, B.** (1981). Regulation of temperature in nests of social insects. In: *Insect Thermoregulation* (Ed. by B. Heinrich), pp. 159–234. New York: J. Wiley.

**Semmens, T.D.; Turner, E. & Buttermore, R.** (1993). *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Paidae) now established in Tasmania. *Journal of the Australian Entomological Society*, 32(4), 346.

**Sick, M.; Ayasse, M.; Tengö, J.; Engels, W.; Lübke, G. & Francke, W.** (2005). Host-parasite relationships in six species of Sphecodes bees and their halictid hosts: Nest intrusion, intranidal behavior, and Dufour's gland volatiles (Hymenoptera: Halictidae). *Journal of Insect Behavior*, 7, 101-117.  
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:21839345>

**Sladen, F.** (1912). *The Humble-Bee: Its Life-History and how to domesticate it, with descriptions of all the British species of Bombus and Psithyrus.* Cambridge University Press.  
doi:10.1017/CBO9781107705739

**Smeets, P. & Duchateau, M.J.** (2003). Longevity of *Bombus terrestris* workers (Hymenoptera: Apidae) in relation to pollen availability, in the absence of foraging. *Apidologie*, 34(4), 333-337.  
<https://doi.org/10.1051/apido:2003026>

**Sosa, C. & Brewer, M.** (1998). Fenología y componentes de un nido de *Bombus morio* (Hymenoptera: Apidae) hallado en Córdoba, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina.*, 57(1-4), 101-104.

**Soucy, S.L.** (2002). Nesting biology and socially polymorphic behavior of the sweat bee *Halictus rubicundus* (Hymenoptera: Halictidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(1), 57-65.  
[https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0057:NBASPB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0057:NBASPB]2.0.CO;2)

**Spiesman, B.; Bennet, A.; Isaacs, R. & Gratton, C.** (2017). Bumble bee colony growth and

reproduction depend on local flower dominance and natural habitat area in the surrounding landscape. *Biological Conservation*, Volume 206, February 2017, Pages 217-223. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.12.008>

**Stabler, D.; Paoli P.P.; Nicolson S.W. & Wright, G.A.** (2015). Nutrient balancing of the adult worker bumblebee (*Bombus terrestris*) depends on the dietary source of essential amino acids. *J Exp Biol.* 2015 Mar;218(Pt 5):793-802. doi: 10.1242/jeb.114249. Epub 2015 Jan 23. PMID: 25617453; PMCID: PMC4376193.

Steffan-Dewenter, I.; Munzenberg, U.; Burger, C.; Thies, C. & Tschardt, T. (2002). Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology*, 83, 1421-1432. <https://doi.org/10.2307/3071954>

**Sutcliffe G.H. & Plowright, R.C.** (1990). The effects of pollen availability on development time in the bumble bee *Bombus terricola* K. (Hymenoptera: Apidae). *Canadian Journal of Zoology* 68(6):1120–1123 DOI 10.1139/z90-166.

**Sutherland, W.; Barnard, P.; Broad, S.; Clout, M.; Connor, B.; Côté, I.; Dicks, L.; Doran, H.; Entwistle, A.; Fleishman, E.; Fox, M.; Gaston, K.; Gibbons, D.; Jiang, Z.; Keim, B.; Lickorish, F.; Markillie, P.; Monk, K.; Pearce-Higgins, J. & Ockendon, N.** (2016). A 2017 horizon scan of emerging issues for global conservation and biological diversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 32. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.11.005>

**Taylor, O. & Cameron, S.** (2003). Nest construction and architecture of the Amazonian bumble bee (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, Springer Verlag, 2003, 34 (4), pp.321-331.

**Tellez-Farfán, L. & Posada-Flórez, F.J.** (2013). Pollination activity and floral preferences of *Bombus* spp. (Hymenoptera: Apidae) present in a hedge. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 16(2): 359-367

Thorp, R.W. (2000). The collection of pollen by bees. In: Dafni, A.; Hesse, M.; Pacini, E. (eds) *Pollen and Pollination*. Springer, Vienna. [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6306-1\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6306-1_11)

**Torres E. & Gómez J.D.** (2008). Evaluación de diferentes tipos de dieta para la iniciación de colonias de abejorros *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) en cautiverio. Tesis de grado para obtener el título de Biólogo. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá.

**Torretta, J.; Medan, D. & Abrahamovich, A.** (2006). First record of the invasive bumblebee *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae) in Argentina. Transactions of the American Entomological Society, 132, 285-289. [https://doi.org/10.3157/0002-8320\(2006\)132\[285:FROTIB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3157/0002-8320(2006)132[285:FROTIB]2.0.CO;2).

**Tuell, J.K. & Isaacs, R.** (2010). Community and species-specific responses of wild bees to insect pest control programs applied to a pollinator-dependent crop. Ecotoxicology. J. Econ. Entomol. 103(3): 668-675 (2010); DOI: 10.1603/EC09314.

**Uthoff, C. & Ruxton, G.** (2022). Local weather conditions affect forager size and visitation rate on bramble flowers (*Rubus fruticosus*) in bumble bees (*Bombus* spp). Journal of Insect Behaviour 35 (3):17–30. <https://doi.org/10.1007/s10905-022-09797-1>

**Vaudo, A.D.; Farrell, L.M.; Patch, H.M.; Grozinger, C.M.; & Tooker, J.F.** (2018) Consistent pollen nutritional intake drives bumble bee (*Bombus impatiens*) colony growth and reproduction across different habitats. Ecology and Evolution. 8: 5765-5776 pdf

**Velthuis, H.H.W.** (2002). The historical background of the domestication of the bumble-bee, *Bombus terrestris*, and its introduction in agriculture. Pollinating Bees- the conservation link between agriculture and nature. Ministry of Environment, 177-184.

**Velthuis, H.H.W. & van Doorn, A.** (2006). A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. <https://doi.org/10.1051/apido:2006019>

**Watrous, K.M.; Duennes, M.A. & Woodard, S.H.** (2019). Pollen diet composition impacts early nesting success in queen bumble bees *Bombus impatiens* Cresson (Hymenoptera: Apidae). Environmental Entomology, Volume 48, Issue 3, June 2019, Pages 711–717,

<https://doi.org/10.1093/ee/nvz043>

**Wcislo, W. & Fewell, J.H.** (2017). Sociality in bees. En Rubenstein, D.R. & Abbot, P. (Eds.), *Comparative Social Evolution* (pp. 50-83). Cambridge University Press; Cambridge Core. <https://doi.org/10.1017/9781107338319.004>

**Westhus, C.; Kleineidam, C. J.; Roces, F. & Weidenmüller, A.** (2013). Behavioural plasticity in the fanning response of bumblebee workers: impact of experience and rate of temperature change. *Animal Behaviour* 85 (2013) 27e34

**Weidenmüller, A.; Kleineidam, C. & Tautz, J.** (2002). Collective control of nest climate parameters in bumblebee colonies. *Animal Behaviour*, 2002, 63, 1065–1071 [doi:10.1006/anbe.2002.3020](https://doi.org/10.1006/anbe.2002.3020), available online at <http://www.idealibrary.comon>

**Weidenmüller, A.** (2004). The control of nest climate in bumblebee (*Bombus terrestris*) colonies: interindividual variability and self-reinforcement in fanning response. *Behavioral Ecology* ; 15 (2004), 1. - pp. 120–128.

**Williams, P.H.** (1998). An annotated checklist of bumble bees with analysis of patterns of description (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Entomology*, 67(1), 79-152. <https://www.nhm.ac.uk/researchcuration/research/projects/bombus//introduction.html>

**Williams, P.; Cameron, S.; Hines, H.; Björn, C. & Rasmont, P.** (2008). A simplified subgeneric classification of the bumblebees (genus *Bombus*). *Apidologie*, 39, 46-74. <https://doi.org/10.1051/apido:2007052>

**Williams, P.H. & Osborne J.L.** (2009). Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie* 40(3):367–387

**Williams, P.H.; Brown, M.J.F.; Carolan, J.C.; An, J.; Goulson, D.; Aytekin, A.M.; Best, L.R.; Byvaltsev, A.M.; Cederberg, B.; Dawson, R.; Huang, J.; Ito, M.; Monfared, A.; Raina, R.H.; Schmid-Hempel, P.; Sheffield, C.S.; Šima, P. & Xie, Z.** (2012). Unveiling cryptic species of the bumblebee

subgenus *Bombus* sp. Str. Worldwide with COI barcodes (Hymenoptera: Apidae). Systematics and Biodiversity, 10(1), 21-56. <https://doi.org/10.1080/14772000.2012.664574>

**Williams, P.H.; Franoso, E.; Martinet, B.; Orr, M.C.; Ren, Z.; Santos Jr.J.; Thanooosing, C. & Vandame, R.** (2022) When did bumblebees reach South America? Unexpectedly old montane species may be explained by mexican stopover (Hymenoptera: Apidae), Systematics and Biodiversity, 20:1, 1-24, DOI:10.1080/14772000.2022.2092229

**Willmer, P.G.; Bataw, A.A.M. & Hughes, J.P.** (1994). The superiority of bumblebees to honeybees as pollinators: Insect visits to raspberry flowers. Ecological Entomology, 19(3), 271-284. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1994.tb00419.x>

**Winter, K.; Adams, L.; Thorp, R.W.; Inouye, D.; Day, L.; Ascher, J. & Buchmann, S.** (2006). 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. January 2006. Conference: A white paper of the North American Pollinator Protection Campaign (NAPPC). Volume: [http://www.pollinator.org/Resources/BEEIMPORTATION\\_AUG2006.pdf](http://www.pollinator.org/Resources/BEEIMPORTATION_AUG2006.pdf)

**Yoon, H.; Kim, S. & Kim, Y.** (2002). Temperature and humidity favorable for colony development of the indoor-reared bumblebee, *Bombus ignitus*. Applied Entomology and Zoology, 37, 419-423. <https://doi.org/10.1303/aez.2002.419>

**Yoon, H.J.; Kim, S.E.; Lee, S.B.; Park, I.G.; Kim, N.J.; Seong, J.H. & Soo, G.W.** (2004). Comparison of the colony development between cardboard and plastic rearing box in the bumblebees, *Bombus ignitus*. Korean J. Apic., 19: 37-42.

**Zuccardi, R.B. & Fadda, G.S.** (1985). Bosquejo Agrol6gico de la provincia de Tucumán. Miscelanea de la Universidad Nacional de Tucumán, 86, 1-33

**Zucchi, R.** (1973). Aspectos bionômicos de *Exomalopsis aureopilosa* e *Bombus atratus* incluindo considerações sobre a evolução do comportamento social (Hymenoptera, Apoidea). Ph.D. Thesis,

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

**Zuur, A.F.; Leno, E.N.; Walker, N.J.; Saveliev, A.A. & Smith, G.M.** (2009). Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer , New York. 574 pp.

**Zuur, A.F.; Hilbe, J.M. & Ieno, E.N.** (2013). A beginner's guide to GLM and GLMM with R: A frequentist and bayesian perspective for ecologists. Highland Statistics Limited.