El Colegio de la Frontera Sur

Factores que influyen en la formación de las congregaciones de zánganos de *Scaptotrigona mexicana* (Apidae: Meliponini).

TESIS

Presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

por

Joany Cecilia Galindo López

2008

DEDICATORIA

A

DIOS

El Señor y dador de todas las cosas que siempre me acompaña y fortalece para seguir adelante.

A MI AMADO ESPOSO

Por enseñarme y aprender conmigo, por su amor y presencia. Gracias amor.

A MIS QUERIDOS PADRES

Por todo su apoyo, comprensión y amor. Por lo que significan en mi vida. Los amo.

A MI HERMANO

Por su presencia y cariño. Significas mucho en mi vida.

A MIS SUEGROS

Por su presencia en mi vida y su cariño incondicional.

AGRADECIMIENTOS
A

CONACYT por la beca otorgada durante los dos años de la Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural con orientación en Entomología Tropical.

ECOSUR por darme la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente.

M. en B. Miguel Ángel Guzmán Díaz por su asesoría en la realización de este proyecto y por compartir sus experiencias en el manejo de las abejas sin aguijón, pero ante todo por su amistad y compañerismo que siempre lo caracterizan. Muchas gracias maestro.

Dr. Bernhard Kraus por la asesoría en este proyecto y su contribución en ideas y traducción del artículo derivado de esta tesis.

Dr. Rémy Vandame por la dirección de esta tesis y por impulsarme a concluir con este proyecto.

Dr. Julio Rojas por la asesoría en este proyecto en los trabajos de laboratorio.

M. en C. Javier Valle Mora por el análisis estadístico de los datos.

IBT. Julio Esponda, IBT. Carlos Balboa, C. Jorge Toto, IBT. Jorge Mérida por el apoyo brindado en las actividades de campo, pero sobre todo por los buenos momentos que compartimos juntos. Gracias.

Sr. Adrián Peña por su amistad y facilidades brindadas en la realización de este proyecto.

C. Rosalba Morales por el apoyo logístico y administrativo que amablemente me brindó durante el tiempo de mi posgrado.

Dr. Leopoldo Cruz López por el apoyo en la revisión del documento final de tesis.

Dr. Daniel Sánchez Guillén por el apoyo en la revisión del documento final de tesis.

INDICE

Página

RESUMEN. 1

1. INTRODUCCIÓN. 2

1.1. Congregaciones de zánganos. 2

1.2. Explicaciones evolutivas. 3

1.3. El modelo de estudio. 3

1.4. Congregaciones de zánganos en *S. mexicana.* 5

2. OBJETIVOS. 7

2.1. General. 7

2.2. Específicos. 7

3. MATERIALES Y MÉTODOS. 7

3.1. Sitio de estudio. 7

3.2. Material biológico. 8

3.3. Observaciones generales. 9

3.4. Origen de los zánganos. 9

3.5. Efecto del estado biológico de una colonia. 10

3.6. Feromonas de agregación. 11

4. RESULTADOS. 13

4.1. Observaciones generales. 13

4.2. Origen de los zánganos. 17

4.3. Efecto del estado biológico de una colonia. 17

4.3.1. Cambio de las colonias durante la noche: sitio vs. contenido de la colonia. 17

4.3.2. Cambio de las colonias durante el día: sitio-triplay marcado vs. contenido de la colonia. 178

4.4. Feromonas de agregación. 18

4.4.1. ¿Los zánganos depositan alguna feromona de agregación? 18

4.4.2. ¿Son atraídos los zánganos por grupos de otros zánganos? 19
4.4.3. ¿Son atraídos los zánganos por grupos de obreras? 19
5. DISCUSIONES. 19
5.1. Observaciones generales. 19
5.2. Origen de los zánganos. 20
5.3. Efecto del estado biológico de una colonia. 21
5.4. Una posible feromona de agregación. 23
6. CONCLUSIONES. 25
7. REFERENCIAS. 26

RESUMEN.

Las congregaciones de zánganos son un fenómeno común en especies de abejas sin aguijón; estas son formadas por varios cientos de individuos y pueden persistir varios días e incluso semanas en el mismo sitio. La razón por la que las congregaciones se establecen directamente sobre las colonias se ha explicado a través de la hipótesis de que una reina virgen dentro de las colonias influye en la agregación de los zánganos. En este estudio se utilizaron congregaciones de zánganos de *Scaptotrigona mexicana* para evaluar esta hipótesis. Se evaluó la influencia del contenido de una colonia (por ejemplo una reina virgen) mediante pruebas de elección en campo que consistieron en mover y reemplazar la colonia sobre la cual se formó una congregación a 1 y 2 m de distancia del sitio original. Los resultados demuestran que los zánganos no tienen preferencia por alguna colonia en particular, sino que deciden permanecer en sitios específicos (Prueba exacta de Fisher; $P < 0.001$). También se evaluó la respuesta de los zánganos al olor depositado sobre un sustrato, triplay, en el cual se mantuvieron posados. Los experimentos fueron realizados en campo sustituyendo a la colonia experimental por una caja vacía; el triplay experimental fue movido y colocado en cajas vacías a 30 y 50 cm del sitio original hacia la derecha e izquierda. Los resultados demuestran una preferencia por el olor depositado en el triplay (Prueba exacta de Fisher; $P < 0.001$ y $P < 0.02$ respectivamente). Esta preferencia también fue evaluada en experimentos de laboratorio mediante la respuesta comportamental de los machos a grupos de 50 machos y 50 obreras utilizando un olfatómetro en "Y". Los resultados muestran que existe una atracción entre individuos del mismo sexo (Prueba G; $P < 0.001$) no así entre machos y obreras (Prueba G; $P = 0.5733$).

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Congregaciones de zánganos.

Las congregaciones de zánganos son un fenómeno común en especies de abejas eusociales (Engels y Engels 1984; Paxton 2000). Las investigaciones han sido dirigidas principalmente hacia la especie *Apis mellifera* en la que se ha determinado que las congregaciones son formadas por zánganos que provienen de diferentes colonias. Baudry *et al.* (1998) determinaron que una congregación de *A. mellifera* comprendía machos que se originaban de 240 colonias diferentes. Las congregaciones se forman en sitios constantes llamados áreas de congregación (Koeniger *et al.* 2005). Estas áreas pueden establecerse en un mismo lugar por décadas (Page 1986) y los machos pueden regresar a sus respectivas colonias después de permanecer por algún tiempo en dichas áreas (Koeniger 1988). La formación de las congregaciones es también un fenómeno observado en abejas sin aguijón; sin embargo se han realizado pocos estudios. Michener (1946) realizó la primera descripción de una congregación en *Melipona favosa*, observando congregaciones de 25-70 machos ocurriendo en el mismo sitio por varios días. Mas tarde, se observó que estas congregaciones son formadas por individuos provenientes de diferentes nidos (Sommeijer y Bruijn 1995) y que acuden a estas congregaciones como parte de su comportamiento reproductivo, ya que en las áreas de congregación tienen posibilidades de apareamiento con una reina virgen (Sommeijer y Bruijn 1995; Van Veen *et al.* 1999). Engels *et al*. (1997) confirmaron que las congregaciones de zánganos son comunes en *Scaptotrigona postica,* y Paxton (2000) demostró que los zánganos congregados de esta especie no se originan de la colonia sobre la cual se encuentran congregados. Guzmán *et al.* (2004) mencionan que las congregaciones también son frecuentes en *S. mexicana,* y en experimentos realizados por Kraus *et al.* (2008) se demostró que los zánganos de estas congregaciones provienen de múltiples colonias.

1.2. Explicaciones evolutivas.

Debido a que las congregaciones están constituidas por zánganos de diferentes colonias, la principal explicación para la formación de congregaciones podría ser evitar la endogamia asegurándose de que las reinas puedan aparearse con una muestra panmíctica de zánganos (Oldroyd *et al*. 1995; Baudry *et al*. 1998). La endogamia tiene consecuencias severas en abejas eusociales debido al mecanismo de determinación del sexo. Los individuos diploides que son heterocigotos en el locus que determina el sexo se convierten en hembras y los haploides en machos. Sin embargo, también los individuos diploides que son homocigotos en el locus que determina el sexo se convierten en zánganos que son estériles. En especies monogámicas de abejas sin aguijón, los zánganos diploides sobreviven y llegan a la madurez y pueden conducir a la pérdida del 50% de la cría de obreras, reduciendo grandemente el crecimiento y funcionamiento de la colonia (de Camargo 1979; Carvalho *et al*. 1995; Kerr 1997; Green y Oldroyd 2002).

Sin tomar en consideración estas discusiones genéticas, formar una congregación también puede ser una estrategia para que un zángano tenga oportunidad de aparearse con una reina. El número de reinas vírgenes en una población de abejas eusociales es muy limitado, ya que no todas las colonias se reproducen en una misma época (Moo-Valle *et al*. 2001) y el número de colonias es generalmente bajo comparado al número de zánganos. Por otro lado, las reinas vírgenes solamente están disponibles para aparearse durante un periodo de tiempo muy limitado en su vuelo de apareamiento. Entonces, las congregaciones de zánganos pueden ser un medio eficaz para atraer a las reinas vírgenes mediante feromonas a diferencia de zánganos individuales que no tendrían posibilidad alguna de atraer a una reina y de aparearse con éxito.

1.3. El modelo de estudio.

Las congregaciones de zánganos han sido poco estudiadas en abejas sin aguijón. En este estudio, se determinó trabajar con una abeja común en las costas de México, *S. mexicana*.

Scaptotrigona mexicana es una especie eusocial y con mecanismos sofisticados de comunicación (Sánchez *et al*. 2007). Se presenta desde Chiapas y por la costa del Golfo de México hasta Tamaulipas, tanto por tierras bajas con Bosque Tropical Perennifolio como en las laderas de las montañas en Bosques de Pino y Mesófilo de Montaña, a una altitud que oscila alrededor de los 1000 m. Se encuentra en forma discontinua al sur del Estado de México, en los alrededores de Ixtapan de la Sal, y las montañas cercanas a Zihuatanejo en el extremo más Oeste de la Sierra Madre del Sur en Guerrero (Ayala 1999).

Scaptotrigona mexicana construye sus nidos en troncos o ramas huecas donde habita en colonias con tres tipos de castas definidas: reina, obreras y zánganos (Wille y Michener 1973) (Foto 1). El sistema de determinación del sexo es la haplodiploidía. Los individuos diploides que son heterocigotos en el locus que determina el sexo se convertirán en hembras y los haploides en machos (Beye *et al*. 2003). De esta forma, de un huevo normalmente fecundado se originará una hembra, cuyo destino podrá ser obrera o reina, dependiendo de la alimentación que reciba; mientras que los machos nacerán a partir de huevos sin fecundar por un proceso llamado partenogénesis arrenotóquica (Monteserín 2004). El mayor porcentaje de los individuos de la colonia lo constituyen las obreras, quienes se encargan de las labores de construcción, alimentación de reinas y larvas, defensa, así como el acopio de recursos (Sakagami 1982).

Foto 1. Colonia de *S. mexicana* con tres tipos de castas definidas: reina, obreras y zánganos. La reina presenta el abdomen más desarrollado que las demás abejas.

Los machos o zánganos son la parte reproductiva masculina de la colonia y en el caso de las abejas sin aguijón pueden desempeñar algunas funciones como la generación de calor en el área de cría, la maduración de la miel y la producción de cera (Sommeijer *et al*. 1990a). La reproducción a nivel de colonia involucra de forma natural la enjambrazón de las mismas (Nogueira 1997; Biesmeijer 1997). El proceso de enjambrazón en las abejas sin aguijón es lento comparado con las abejas melíferas. El proceso ha sido observado pocas veces pero al parecer sigue un patrón determinado (Engels e Imperatriz-Fonseca 1990). Para que se desencadene la enjambrazón se requiere que la colonia tenga una población fuerte y gran cantidad de reservas de alimento. Bajo estas condiciones, las exploradoras comienzan a buscar sitios para el nuevo nido. Una vez que se ha elegido uno, las abejas empiezan la construcción del nido, usando material de la colonia madre. Una vez que se tiene un abastecimiento de reservas de alimento, alguna reina virgen de la colonia madre sale con un grupo de obreras de la misma hacia la colonia hija. La reina virgen hace su vuelo nupcial, donde es apareada solamente por un macho que se encuentra en congregaciones cercanas a los nidos (Strassmann 2001).

1.4. Congregaciones de zánganos en *S. mexicana*.

Diversos factores pueden intervenir en la formación de las congregaciones, tal como la época del año y las condiciones climáticas que determinan la aparición y tiempo de vida de los zánganos que por lo general es de tres meses. Los factores ambientales pueden presentar cierta influencia en la actividad de vuelo de algunas especies de abejas nativas, aunque no siempre con la misma intensidad (Hilario *et al*. 2000). En *Scaptotrigona pectoralis*, el vuelo de los machos en las áreas de congregación está en función de la temperatura. A temperaturas cercanas a los 25 ºC, el número de machos disminuye, y cuando esta variable aumenta, también el número de machos aumenta (May-Itzá 2003). Otro de los factores importantes y que ha sido considerado como el detonante para la formación de una congregación es la presencia de una reina virgen. En las trigonas, las agregaciones de machos se establecen fuera de las colonias donde puede haber una reina virgen lista para aparearse, por lo que puede utilizar alguna feromona como señal olfatoria (Engels e Imperatriz-Fonseca 1990). Los machos son atraídos por alguna feromona o el olor dispersado por las pecoreadoras que tienen contacto con la reina virgen y de manera indirecta atrayéndolos hacia ella (Roubik 1990). Engels y Engels

(1984) sugieren que el factor que estimula la formación de una congregación en *S. postica* es la presencia de una reina virgen. Van Veen y Sommeijer (2000) observaron que los machos de *Tetragonisca angustula* fueron atraídos a los nidos que contenían reinas vírgenes y en el momento que la reina abandonó el nido, los machos inmediatamente siguieron a la reina. En los días posteriores al vuelo nupcial, la presencia de machos cerca de los nidos disminuyó gradualmente. Estos investigadores sugieren la presencia de un mecanismo feromonal donde las reinas vírgenes atraen a los zánganos y una vez apareada la atracción disminuye. En *S. mexicana* se han observado congregaciones de zánganos cercanas a los nidos (Foto 2) y estas son frecuentes cuando hay presencia de reinas vírgenes en colonias establecidas en meliponarios (Guzmán *et al*. 2004). Estas congregaciones son formadas por varios cientos de individuos y pueden persistir varios días e incluso semanas en el mismo sitio. En meliponarios establecidos, las áreas donde se ha observado la formación de congregaciones de *S. mexicana* parecen ser sitios seleccionados con frecuencia año tras año.

Foto 2. Congregación de zánganos de *S. mexicana* sobre una colonia experimental.

En este estudio investigamos los factores que intervienen en el proceso de formación de congregaciones de *S. mexicana*. Evaluamos la hipótesis de que el contenido de una colonia determinada (por ejemplo una reina virgen) estimula la formación de las congregaciones justamente fuera de esta colonia. También analizamos la presencia de olores de marcaje que pudieran ser utilizados por los zánganos para marcar su sitio de agregación. Con esta información se pretende contribuir a un mejor entendimiento de la

biología reproductiva de *S. mexicana*, y así mismo fortalecer los conocimientos del manejo y propagación de esta especie.

2. OBJETIVOS.

2.1. General.

Determinar los factores que influyen en la formación de congregaciones de zánganos de *S. mexicana*.

2.2. Específicos.

Establecer el tiempo de permanencia, origen y número de zánganos que forman las congregaciones.

Evaluar diferentes microclimas (intensidad de luz y temperatura) dentro de los meliponarios que influyan en la selección de los sitios de agregación.

Evaluar la influencia del contenido de una colonia para la formación de las congregaciones.

Determinar la presencia de olores de marcaje utilizados por los zánganos para marcar el sitio de agregación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Sitio de estudio.

El presente trabajo se realizó en los meliponarios experimentales de la Línea de Investigación Abejas de Chiapas de El Colegio de la Frontera Sur ubicados en los municipios de Cacahoatán (14º 59’ N y 92º 10’ O) y Tuxtla Chico, Chiapas (14°54’47” N y 92°11’55” O) (Foto 3). El periodo de estudio comprendió los meses de Diciembre 2006 a Agosto 2007.

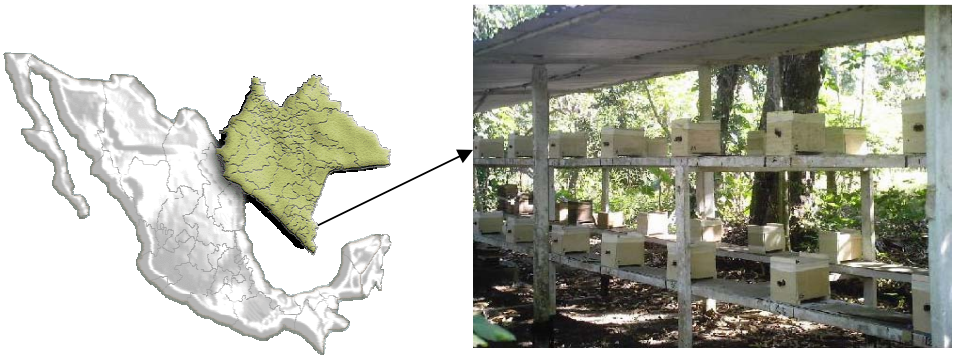


Foto 3. Ubicación de los meliponarios experimentales de *S. mexicana.*

3.2. Material biológico.

Se establecieron cuatro sitios (palapas) de experimentación, dos de ellos ubicados en Cacahoatán (palapa 1 y 2) y dos en Tuxtla Chico (palapa 3 y 4). En cada sitio se colocaron 28 colonias de *S. mexicana* alojadas en cajas tipo Portugal-Araujo cubiertas en las paredes laterales y anteriores con material triplay, dejando al descubierto únicamente la entrada de la colmena (piquera). Estas se encontraban en condiciones homogéneas respecto a la población adulta, panales y reservas alimenticias. Las cajas fueron distribuidas dentro de cada sitio con 1 metro de distancia entre piqueras (Foto 4). De forma alternada se orfanizaron la mitad de las colonias establecidas dejando en ellas algunas celdas reales que produjeran reinas vírgenes.

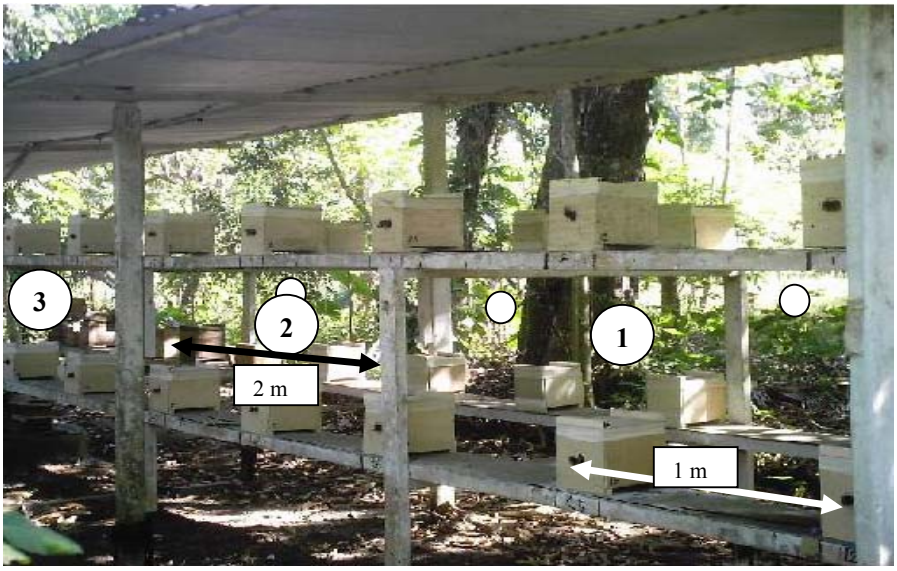


Foto 4. Sitios establecidos a lo largo de cada palapa experimental. Los círculos indican los puntos donde fueron tomados los datos de temperatura y de luz.

3.3. Observaciones generales.

Para identificar la fecha de inicio de las congregaciones se realizaron dos recorridos semanales en los meliponarios a partir del mes de diciembre 2006. Cuando se detectó la formación de una congregación se llevó un registro desde su formación hasta la fecha en la que esta desapareció. Se registro el número máximo de zánganos que participaron en las congregaciones y los sitios donde fueron encontrados. Para identificar si la intensidad de luz y la temperatura son condiciones determinantes en la selección de los sitios de agregación se dividieron las palapas en seis subáreas de aproximadamente 2 metros de largo: tres en el lateral derecho y tres en el lateral izquierdo (Foto 4). Se registraron los datos de temperatura y luz en intervalos de una hora a partir de 7:00 h a 18:00 h. Se utilizó el análisis estadístico de modelos mixtos para establecer diferencias de temperatura y de intensidad de luz entre las diferentes subáreas de los meliponarios. La diferencia en la selección de los sitios se obtuvo con una prueba Chi-cuadrada.

3.4. Origen de los zánganos.

Para determinar la procedencia de los zánganos de las congregaciones que se formaron en los meliponarios se utilizaron dos métodos, con dos repeticiones cada uno:

1) se tomaron 500 zánganos de una congregación previamente establecida para ser llevados a una caja de vidrio ubicada a 10 m del sitio de captura y allí ser marcados en el tórax con pintura acrílica de color fluorescente; conforme fueron marcados se liberaron uno a uno para que retornaran al sitio de agregación (Foto 5). Al día siguiente, se colocó un vidrio entre la cámara de cría y la tapa a todas las cajas de la palapa incluyendo donde se observó la congregación, para que durante la noche, cuando la congregación se hubo desvanecido, se observaran las colonias para localizar la presencia de zánganos marcados (Foto 6).

2) De otra congregación establecida en una segunda palapa ubicada a 30m de la primera se tomaron 250 zánganos y se marcaron de forma similar al método 1 pero con un color diferente. Las cajas de este meliponario se cubrieron durante la noche con bolsas de tela tul que permitieron la observación e identificación de los machos marcados al momento

de emprender el vuelo de abandono del nido para formar la congregación a la mañana siguiente (Foto 6).

Foto 5. Marcaje de los zánganos de *S. mexicana*.

Foto 6. Observación de colonias para localizar la presencia de zánganos marcados.

3.5. Efecto del estado biológico de una colonia.

Para determinar si el contenido de una colonia es el principal factor para que los zánganos se congreguen en una colonia determinada, se realizaron dos experimentos de selección del sitio. En estos experimentos las colonias sobre las que inicialmente se observaron las congregaciones fueron movidas y reemplazadas por colonias que no presentaron alguna congregación. Los ensayos se realizaron de la siguiente manera:

1) Intercambio de colonias durante la noche: sitio vs. contenido de la colonia.

Cada colonia sobre la cual se observó una congregación fue removida de su sitio original y sustituida por una colonia diferente. Los cambios se realizaron a 1 m de distancia en la primera noche y a 2 m durante la segunda noche. Si el contenido de las colonias era el responsable en la formación de las congregaciones (por ejemplo la presencia de una reina virgen), los zánganos debían seleccionar la colonia original ubicada a 1 m o 2 m del sitio original. En este experimento se utilizaron 10 congregaciones diferentes. Se utilizó una prueba exacta de Fisher para analizar la diferencia entre la selección del sitio y el contenido de la colonia.

2) Intercambio de colonias sin la superficie anterior (triplay) durante el día: sitio-triplay vs. contenido de la colonia.

Se seleccionó una congregación de aproximadamente 2000 individuos, los cuales se encontraron posados sobre el triplay de una colonia. Después que la congregación se hubo establecido durante cinco días, se evaluó la respuesta de los zánganos ante el cambio de posición de la colonia de su sitio original durante el día. Las pruebas se realizaron dejando en el sitio original una colonia diferente (sin previa congregación) cubierta con el triplay que estuvo en contacto con los zánganos. Se realizaron 20 cambios de la colonia original hacia la derecha y la izquierda a 1 m de distancia del sitio original en intervalos de 10 minutos. En caso de que el contenido de una colonia indujera la formación de las congregaciones, los zánganos seleccionarían la colonia original ubicada a 1 m del sitio original. Se utilizó una prueba exacta de Fisher para analizar la diferencia entre la selección del sitio-triplay y el contenido de la colonia.

3.6. Feromonas de agregación.

Para evaluar la posibilidad de que los zánganos utilicen alguna feromona de agregación se realizaron experimentos de campo y de laboratorio. Estos últimos se realizaron en los laboratorios de Ecología Química de Insectos Tropicales de El Colegio de la Frontera Sur. Los experimentos fueron realizados de la forma siguiente:

1. ¿Los zánganos depositan alguna feromona de agregación?

Se seleccionó una congregación de aproximadamente 2000 individuos que había permanecido posada sobre una caja durante cinco días y que de forma evidente había dejado una mancha obscura sobre el triplay. Para iniciar el experimento, la colonia que presentaba la congregación fue removida de su sitio y sustituida por una caja vacía a la que se colocó el triplay marcado. En los sitios vecinos a esta caja se colocó una caja vacía cubierta con triplay nuevo. La caja con el triplay manchado se mantuvo en reposo durante 30 minutos para dar lugar a que la congregación regresará a posarse. Se realizaron intercambios de triplay hacia la derecha e izquierda en intervalos de 15 minutos a distancias de 30 y 50 cm. Para ambas distancias se realizaron 10 intercambios. La diferencia entre la selección del sitio y el triplay fue analizada mediante la prueba exacta de Fisher y el efecto de la distancia con un análisis de correspondencia.

2. ¿Son atraídos los zánganos por grupos de otros zánganos?

Se evaluó la respuesta comportamental de los zánganos ante la emisión de volátiles de otros zánganos usando un olfatómetro en "Y" similar en diseño y operación al descrito por Ruiz *et al*. (2003) y Altúzar (2004). En uno de los brazos del olfatómetro se colocó la fuente de olor (50 zánganos) y el otro permaneció vacío. Se hizo pasar una corriente de aire purificado (0.5 l/min) a través de carbón activado en ambos brazos hacia la base del olfatómetro, en donde fue colocado el zángano receptor. Se observó la elección del zángano y se consideraba como respuesta de atracción cuando dentro de 5 min (duración de la prueba) eligiera alguno de los brazos caminando hasta la parte final de este. Después de cada bioensayo el olfatómetro era lavado con agua y jabón y secado a 120 ºC durante media hora. Los bioensayos fueron realizados bajo la iluminación de seis lámparas fluorescentes (GE, 39W) colocadas 120 cm arriba del olfatómetro, la intensidad de luz provista fue de 1690 lux. Se realizaron 50 repeticiones para cada muestra. Los zánganos fueron colectados directamente de una congregación. La muestra se obtuvo 1 h antes de los experimentos y se mantuvo en los frascos del equipo del olfatómetro 1 h previa al inicio del primer bioensayo.

3. ¿Son atraídos los zánganos por grupos de obreras?

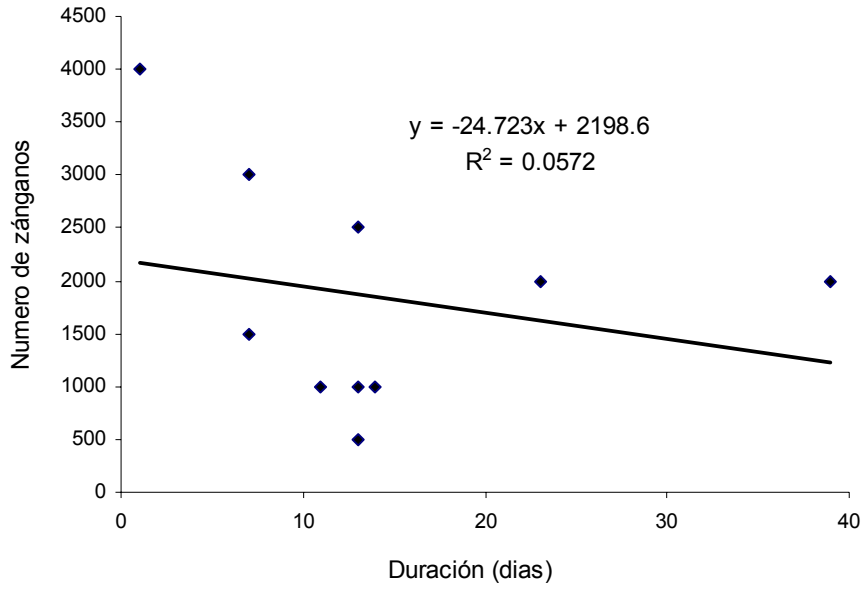
Para excluir la posibilidad de que los zánganos son simplemente atraídos a otras abejas independientemente del sexo se realizaron pruebas conductuales de los zánganos ante la emisión de volátiles de obreras usando un método similar en diseño y operación al experimento 2. Las obreras fueron colectadas al momento del vuelo de salida de las colonias. Se realizaron 50 repeticiones.

Para examinar la preferencia por alguno de los brazos del olfatómetro en "Y" se utilizó una prueba G con corrección de Williams (Sokal y Rohlf 1995). Los zánganos que no eligieron alguno de los brazos fueron excluidos de los análisis.

4. RESULTADOS.

4.1. Observaciones generales.

Durante el periodo de observación de Diciembre 2006 hasta Julio 2007 se registraron un total de 22 congregaciones formadas cerca de las colonias experimentales de los dos meliponarios. De estas, 21 se observaron posadas directamente sobre la superficie de las colonias y solamente una se encontró sobre la estructura metálica del meliponario. Las congregaciones (seleccionadas aleatoriamente) cuyo desarrollo fue observado, permanecieron un promedio de 14 ± 10 días. El número promedio de zánganos que formaron las congregaciones fue de 1850 ± 1026 individuos. Durante el día las congregaciones se presentaron desde las 9:00 hasta las 18:00 h. La duración y el número máximo de individuos que formaron las congregaciones se observa en la gráfica 1. No se encontró correlación alguna entre estos dos factores ($r^2 = 0.0572$; $p = 0.239$).



Gráfica 1. Duración y número máximo de zánganos que formaron las 10 congregaciones seleccionadas aleatoriamente.

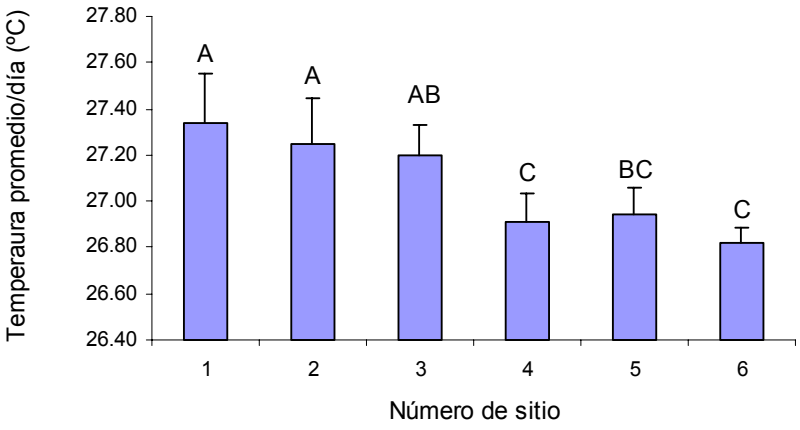
Del total de las congregaciones registradas, 9 se presentaron en Cacahoatán: 8 en la palapa 1 y solamente 1 en la palapa 2. En Izapa se presentaron 13 congregaciones: 10 en la palapa 3 y 3 en la palapa 4 (Cuadro 1). Para evaluar si las congregaciones se distribuyeron aleatoriamente en los sitios establecidos dentro de las palapas experimentales, se utilizaron los datos obtenidos en las palapas 1 y 3, las cuales presentaron el mayor número de congregaciones. En ambas palapas la distribución observada de las congregaciones difiere significativamente de una distribución aleatoria (Poisson) (palapa 1: $\chi^2 = 360.5$, G.L. = 6, $p < 0.001$; palapa 3: $\chi^2 = 11.3$, G.L. = 6; $p < 0.03$).

Cuadro 1. Distribución de las 22 congregaciones observadas en los diferentes sitios dentro de las palapas ubicadas en Cacahoatán e Izapa.

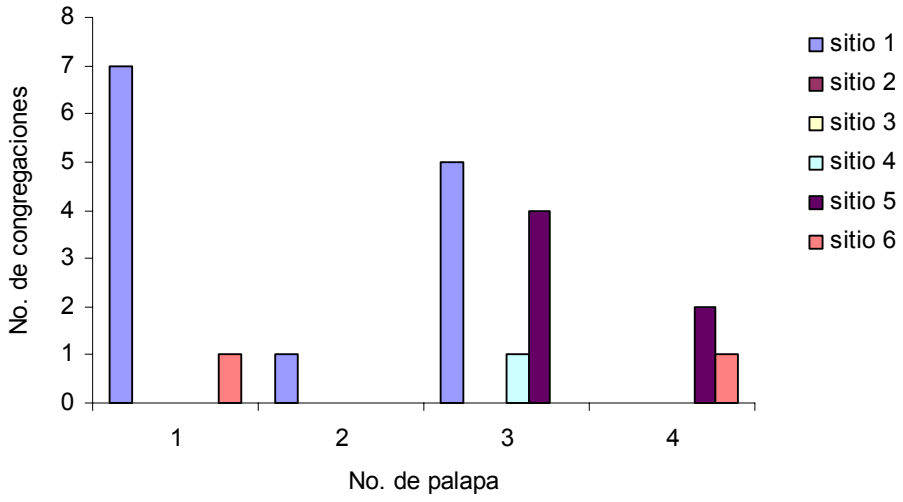
Lugar		Total	sitio 1	sitio 2	sitio 3	sitio 4	sitio 5	sitio 6
Cacahoatán	Palapa 1	8	7	/	/	/	/	1
	Palapa 2	1	1	/	/	/	/	/
Izapa	Palapa 3	10	5	/	/	4	1	/
	palapa 4	3	/	/	/	/	2	1

/ = no se presentó congregación.

Los datos obtenidos de temperatura mostraron que dentro del área de los meliponarios existen diferencias significativas entre los sitios ($F = 6.17$, G.L. = 5, $p < 0.003$). Entre los sitios 1, 2 y 3 no se observó diferencia respecto de la temperatura, sin embargo difieren significativamente de los sitios 4, 5 y 6 (Gráfica 2). Los sitios donde fueron observadas las congregaciones se muestran en la gráfica 3.

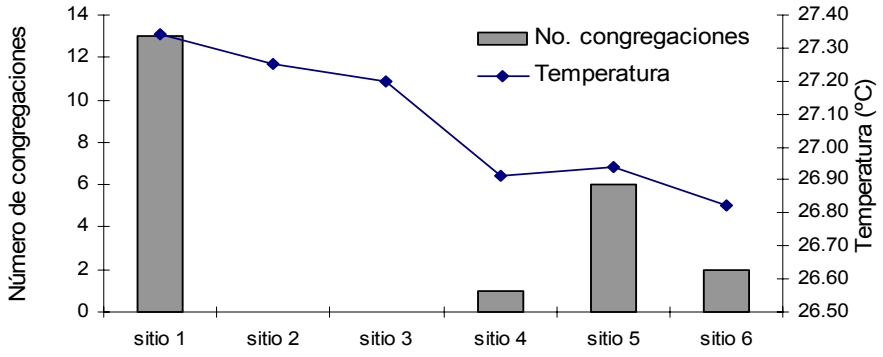


Gráfica 2. Temperatura observada en los diferentes sitios dentro de los meliponarios.



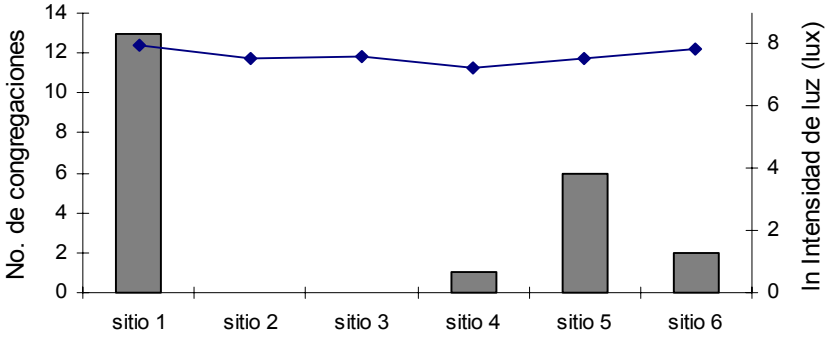
Gráfica 3. Congregaciones observadas en los diferentes sitios.

Las congregaciones se presentaron principalmente en el sitio 1, donde se observó la mayor temperatura (Prueba Chi-cuadrada; $p < 0.03$) (Gráfica 4). Respecto de la intensidad de luz, no se observó influencia en la selección de los sitios de agregación ($F = 1.10$, G.L. = 5, $p = 0.38$) (Gráfica 5).



Gráfica 4. Selección de los sitios de agregación con respecto de la temperatura.

Número de congregaciones — Temperatura



Gráfica 5. Selección de los sitios de agregación con respecto de la intensidad de luz.

Número de congregaciones — Intensidad de luz

4.2. Origen de los zánganos.

De los 500 y 250 zánganos marcados, aproximadamente el 90% regresaron a su congregación inicial durante los siguientes días. El intercambio de zánganos entre las dos congregaciones fue de 1% del total de los zánganos marcados. No se observó presencia de zánganos marcados dentro de las colonias durante las revisiones nocturnas y en los vuelos de abandono del nido durante el día.

4.3. Efecto del estado biológico de una colonia.

4.3.1. Cambio de las colonias durante la noche: sitio vs. contenido de la colonia.

En los experimentos de cambio a 1 m de distancia durante la noche, 8 de 10 congregaciones se formaron durante los siguientes días sobre la colonia nueva situada en el sitio original de agregación y únicamente dos siguieron a la colonia original ubicada a 1 m de distancia del sitio donde inicialmente fue observada. Este patrón se repitió a la distancia de 2 m, aquí 8 congregaciones se situaron en el sitio original y solamente 1 siguió a la colonia original (en un caso la congregación no se formó el siguiente día). En ambos casos la elección de las congregaciones después de los cambios realizados difieren significativamente de la elección esperada bajo la hipótesis de que el factor para la formación de las congregaciones es el contenido de las colonias (Prueba exacta de Fisher; $p < 0.0001$). Los resultados se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de los experimentos en campo. A) Cambio de colonias durante la noche a 1 y 2 m. B) Cambio de colonias durante el día a 1 m. C) Cambio del triplay a 0.3 y 0.5 m.

Experimento			**Distancia**		
	Total	**0**	**1 m**	**2 m**	**P <**
A	10	8	2	/	0.0001
		8	/	1	0.0001
B	20	20	0	/	0.001
		0	**0.3m**	**0.5m**	
C	10	0	10	/	0.001
	10	5	/	5	0.02

/ = no se presentó congregación.

4.3.2. Cambio de las colonias durante el día: sitio-triplay marcado vs. contenido de la colonia.

En los experimentos de cambio a 1 m de distancia durante el día, en 20 de los 20 cambios, los zánganos seleccionaron a la colonia nueva que contenía el triplay y que fue colocada en el sitio original de agregación. En ninguno de los casos la congregación se dirigió a la colonia original ubicada a 1 m de distancia del sitio donde inicialmente fue observada. La elección de la congregación después de los cambios realizados difiere significativamente de la elección esperada bajo la hipótesis de que el factor para la formación de las congregaciones es el contenido de las colonias (Prueba exacta de Fisher; $p < 0.001$). Los resultados se muestran en el Cuadro 2.

4.4. Feromonas de agregación.

4.4.1. ¿Los zánganos depositan alguna feromona de agregación?

Los zánganos de *S. mexicana* reaccionaron rápidamente al disturbio ocasionado durante el montaje del experimento, formando una nube de zánganos frente al sitio de agregación con un diámetro aproximado de 2 m. Después de 5 a 10 min, comenzaron nuevamente a agregarse en la caja vacía que contenía el triplay experimental. En los experimentos de cambio del triplay a 30 cm de distancia, en 10 de los 10 casos la congregación seleccionó al triplay, y de igual manera, a 50 cm de distancia, en 5 ocasiones la congregación seleccionó al triplay, mientras que en los 5 casos restantes los zánganos retornaron al sitio original. En ambos casos la elección de la congregación difiere significativamente de la elección esperada bajo la hipótesis de mantenerse en el sitio original. (Prueba exacta de Fisher; $p < 0.001$ y $p < 0.02$ respectivamente). La elección de los zánganos fue influenciada por la distancia a la que fue colocado el triplay experimental (Análisis de correspondencia; $p < 0.05$). Los resultados se muestran en el Cuadro 2.

4.4.2. ¿Son atraídos los zánganos por grupos de otros zánganos?

Durante los bioensayos se observó que la respuesta de los zánganos incrementaba cuando la muestra permanecía mas tiempo en los frascos conectados al tubo en "Y". En experimentos preliminares cuando la muestra fue evaluada inmediatamente después de ser colectada, la frecuencia de una respuesta positiva era mínima por lo que se decidió evaluar la muestra una hora después, tiempo en el que se asume que la concentración de los volátiles era mayor. En 38 de los 50 ensayos, los zánganos seleccionaron la muestra de 50 zánganos. Estos resultados muestran que los zánganos prefieren a los volátiles emitidos por la muestra más que al aire (Prueba G; $p < 0.001$).

4.4.3. ¿Son atraídos los zánganos por grupos de obreras?

Con la finalidad de verificar que los volátiles emitidos por los zánganos correspondieran a sustancias propias de los machos y no al olor característico de las abejas, se realizaron bioensayos con una muestra de obreras. En 27 de los 50 ensayos, los zánganos seleccionaron la muestra de 50 obreras. Estos resultados muestran que los zánganos no tienen preferencia alguna a los volátiles emitidos por la muestra (Prueba G; $p = 0.57$)

5. DISCUSIONES.

5.1. Observaciones generales.

Las congregaciones de zánganos son un fenómeno común en *S. mexicana*. Estas congregaciones permanecen durante el día entre las 9:00 h y 18:00 h, sin embargo la mayor actividad parece presentarse en las primeras horas del día, ya que se observaron vuelos circulares frente a las colonias a una distancia de 0.5 m a 1 m. Este comportamiento puede estar relacionado con el horario de vuelo de las reinas vírgenes, ya que, en un caso aislado, observamos que a las 12:00 h del día se presentó un vuelo ascendente de los zánganos que duró aproximadamente 1 min, este comportamiento al parecer fue influenciado por el vuelo de una reina virgen que previamente había sido

observada en una colonia cercana al sitio de agregación y que posteriormente se encontró fecundada.

En *Melipona*, se han encontrado vuelos de zánganos antes de las 11:00 h (van Veen *et al*. 1997) y algunas observaciones sobre el vuelo nupcial de este género revelaron que usualmente se llevan a cabo entre las 9:30 h y 15:00 h (Da Silva *et al*. 1972; Sommeijer y de Bruijn 1995; van Veen *et al*. 1994). En otras especies de meliponinos como *S. postica* y *M. favosa* también ha sido observado que la mayor actividad de los zánganos se efectúa durante la mañana (Engels y Engels 1984; van Veen et al. 1997; Sommeijer y de Bruijn 1995). En *T. angustula* se ha visto que los machos se agregan algunos días antes de que una reina joven arribe con un enjambre. Los machos permanecen en el mismo sitio hasta que el vuelo nupcial se realice (Nogueira-Ferreira y Soares 1998). En esta especie el vuelo nupcial se realiza cuando la reina virgen tiene una edad promedio de 11 días (van Veen y Sommeijer 2000).

El número de zánganos que forman las congregaciones de meliponinos puede variar desde unos pocos hasta cientos de individuos (Velthuis *et al*. 2005). En *S. mexicana* encontramos que las congregaciones pueden estar formadas de 500 a 4000 zánganos. Este amplio rango puede estar relacionado con la producción de zánganos, ya que en las abejas sin aguijón se ha observado que la producción varía durante todo el año, dependiendo de la especie, las condiciones de la colonia y la época (Bego 1982; Engels y Engels 1984; Sommeijer 1994; van Veen *et al*. 1992).

5.2. Origen de los zánganos.

El origen de los zánganos que formaron las congregaciones de *S. mexicana* es incierto, sin embargo suponemos que se originan de las colonias establecidas en los meliponarios, ya que estas colonias presentaron las condiciones óptimas para la producción de zánganos (por ejemplo: suficientes reservas alimenticias y población abundante) (Moo-Valle *et al*. 2001). Asumiendo como cierta nuestra suposición podemos asegurar que los zánganos no retornan a la colonia madre después de haberla abandonado. Este comportamiento tiene importantes implicaciones en la biología de las abejas sin aguijón respecto a una relación costo-beneficio, ya que el abandono de los zánganos ayuda a

economizar energía en la colonia. Por otro lado, en *Melipona* se ha visto que la búsqueda de recursos es común en los zánganos (van Veen *et al*. 1997), aspecto que puede explicar por qué no regresan a su colonia.

Algunos estudios han demostrado que los zánganos abandonan temporalmente las congregaciónes durante el día (van Veen *et al*. 1997). En este estudio encontramos que el 1% de los zánganos que inicialmente fueron marcados para deducir su origen visitaban a otra congregación. Durante su visita los zánganos parecían ser aceptados como si se tratase de la misma congregación. En este contexto, van Veen y Sommeijer (2000) presentan la hipótesis de que muchos zánganos son producidos en una "época reproductiva" y durante ella los zánganos prefieren distribuirse en diferentes sitios de agregación que formar congregaciones grandes.

5.3. Efecto del estado biológico de una colonia.

En las trigonas se ha visto la importancia de la presencia de reinas vírgenes listas para aparearse en las colonias donde se reúnen los machos y que estos son atraídos por alguna feromona (Engels y Engels 1984; Engels y Engels 1988; Imperatriz-Fonseca *et al*. 1998). Sin embargo, trabajos como el de Sommeijer *et al*. (2003) donde mencionan que obreras de *M. favosa* atraen a los machos como si se tratase de una reina virgen ayudan a contemplar la idea de que no necesariamente la presencia de una reina virgen es el factor fundamental en la formación de las congregaciones si no que deben existir otros factores que expliquen el fenómeno de las congregaciones de zánganos.

En este estudio pudimos demostrar que la presencia de una reina virgen no es suficiente para explicar el fenómeno de las congregaciones de zánganos en *S. mexicana*. Las congregaciones que se presentaron durante el experimento no se distribuyeron aleatoriamente dentro de los meliponarios a pesar de la distribución de las colonias con reinas vírgenes. Esto nos indica que no necesariamente la presencia de una reina virgen influyó en la selección de la colonia sobre la cual se posaron.

Durante el experimento se formaron algunas colonias huérfanas para estimular la formación de congregaciones. Basados en los trabajos de Engels y Engels (1984), se

esperaba que las congregaciones se formaran justamente sobre estas colonias, sin embargo las congregaciones se formaron sobre colonias establecidas. Este resultado refuerza nuestra idea de que la presencia de una reina virgen no necesariamente condiciona el lugar donde se formará una congregación

Por otro lado los experimentos de comportamiento donde cambiamos de posición las colonias que inicialmente habían sido seleccionadas por una congregación revelaron que los zánganos prefieren reunirse nuevamente en el mismo sitio, a pesar de tratarse de una colonia diferente, que seguir a la colonia donde inicialmente fueron encontrados. Esto nuevamente demuestra que el contenido de una colonia, incluyendo una reina virgen, no resulta tan importante para seleccionar el sitio de agregación. Engels y Engels (1984) durante sus experimentos con *S. postica* encontraron que los zánganos regresaban al mismo sitio aún cuando la estructura sobre la cual habían sido encontrados fue removida de su posición original.

Todos los resultados indican que los zánganos tienden a seleccionar un punto determinado dentro de los meliponarios e incluso parece ser constante a través del tiempo, ya que durante observaciones realizadas en años anteriores (comunicación personal con Guzmán en el 2007) en estos sitios comúnmente se han encontrado congregaciones e inclusive no sobre las colonias sino en estructuras de los meliponarios. Este tipo de comportamiento es común en *A. mellifera* donde las congregaciones de zánganos se forman durante décadas en sitios constantes llamados áreas de congregación (Baudry *et al*. 1998; Koeniger *et al*. 2005), aunque se desconoce aún como este tipo de información puede ser transmitida de generación en generación.

A pesar de que la formación de las congregaciones en *S. mexicana* no esta relacionada con el contenido de una colonia determinada, existe la influencia de la temperatura en la selección de los sitios donde se forma una congregación. Aquí encontramos que las congregaciones se establecieron principalmente en los sitios que presentaban temperaturas entre 27 y 28 ºC, los cuales fueron los puntos mas calientes dentro de las palapas experimentales. Una posible explicación para la selección de este tipo de sitios puede estar relacionada con la energía requerida para sus actividades y la capacidad de absorción de calor que depende de su tamaño corporal. Käpylä (1974) menciona la actividad de vuelo de los insectos depende también de su tamaño corporal, ya que

individuos mas grandes pueden volar a temperaturas mas bajas que aquellos individuos pequeños, debido a su mayor capacidad de absorción de calor. *Scaptotrigona mexicana* es una abeja que mide solamente de 5 a 7 mm (Michener 2000).

La influencia de factores ambientales sobre la actividad de vuelo de las abejas sin aguijón ha sido considerada aunque con una intensidad variable (Hilario *et al*. 2000). De estos factores la temperatura se ha mencionado como la más importante. En *Scaptotrigona pectoralis* los vuelos de machos a las áreas de congregación están en función de la temperatura. En Yucatán se ha observado que a temperaturas cercanas a los 25 ºC, el número de machos en estas áreas disminuye, y cuando esta variable aumenta también el número de machos aumenta (May-Itzá 2003). Un estudio realizado con *M. beecheii* demostró que la temperatura influyó en la actividad de vuelo de los machos (Camposeco 2006).

5.4. Una posible feromona de agregación.

Durante el tiempo de formación de las congregaciones de *S. mexicana* es común encontrar en los sitios sobre los cuales se mantienen los zánganos una mancha obscura. Las pruebas realizadas en campo evidenciaron la presencia de una feromona de agregación ya que los zánganos de una congregación siguieron al triplay sobre el cual se habían congregado frente a una colonia, cuando este fue removido de su sitio original y colocado sobre una caja vacía. La aceptación de los zánganos de una caja vacía, de nuevo refuerza la idea de que el contenido de una colonia no influye en la formación de las congregaciones. Por otro lado encontramos que la distancia juega un papel importante en la detección de los olores, pues a medida que el triplay se alejara más del sitio original, la tendencia a seguirlo disminuía y los zánganos optaban por permanecer en el mismo sitio.

Los experimentos realizados en el laboratorio también muestran evidencia de que existen compuestos que median la interacción entre zánganos. Cuando evaluamos un zángano, este resultó fuertemente atraído hacia un grupo de zánganos que habían sido colectados de una congregación el mismo día. Sin embargo, cuando las pruebas fueron

realizadas con un grupo de obreras, los zánganos no respondieron a los volátiles liberados por estas.

Todo parece indicar la presencia de una feromona de agregación, la cual podría estar funcionando como el factor que orienta a otros zánganos a reunirse en un sitio que algunos zánganos previamente hubieran localizado. Respecto a esto, algunos autores como Gerig (1972, citado en Winston 1987) sugieren que existe cierta atracción de zánganos a zánganos en *A. mellifera*, sin embargo aún es incierta la función biológica de estas feromonas.

Los datos obtenidos en este estudio rechazan la idea de que la presencia de una reina virgen en una colonia sea el único factor que induzca a distancias cortas la formación de una congregación; sin embargo no podemos excluir el papel de orientación que pueden desempeñar las feromonas de una reina virgen a grandes distancias. Por lo que es posible considerar que exista una serie de procesos que finalmente llevan a la formación de una congregación. Inicialmente algunos zánganos pueden ser atraídos hacia un área general (meliponario) donde se encuentren colonias con reinas vírgenes. Posteriormente factores ambientales como la temperatura influirán en la selección del sitio de agregación, por lo que los zánganos solo requieren estar cerca de colonias donde se encuentre una reina virgen. Una vez establecido un pequeño grupo de zánganos en un sitio determinado, por influencia de una feromona de agregación estos comienzan a reunirse.

De ser cierto el mecanismo indicado, resulta interesante que la mayoría de las congregaciones seleccionaran específicamente rodear la entrada de las colonias y solamente en un caso, se observó una congregación establecerse en estructuras de las palapas. En este contexto ya hemos mencionado que el contenido de la colonia no es importante, así que una hipótesis a la preferencia de estos sitios es la protección que la colonia pueda brindarle ante depredadores que son comunes en las abejas sin aguijón. Guzmán *et al*. (2004) mencionan que dentro de los enemigos naturales de *S. mexicana* se encuentran las hormigas, arañas, lagartijas, sapos y pájaros.

Un sesgo potencial en este estudio es el uso de los meliponarios artificiales que representan un ajuste semi-natural con una alta concentración inusual de colonias. Sin embargo, es esta la única forma en que podemos obtener datos de un número suficientemente alto de congregaciones bajo condiciones controladas e igualadas. La medida en que se presentan las congregaciones en *S. mexicana* de manera natural es un fenómeno por explorar, no obstante ya se están realizando estudios en otras especies de abejas sin aguijón (Sommeijer *et al*. 2003).

En resumen, con este estudio pudimos demostrar que la selección de un sitio de agregación no depende de la presencia de una reina virgen u otro contenido de la colonia, si no más bien es un proceso complejo en el que participan factores de orden ambiental y químico como la temperatura y las feromonas de agregación, respectivamente. Sin embargo, no podemos excluir totalmente la influencia de una reina virgen en la orientación de los zánganos a grandes distancias.

Finalmente, este trabajo también da lugar a estudios futuros, como la identificación de los compuestos químicos de la posible feromona de agregación.

6. CONCLUSIONES.

- Las congregaciones son un fenómeno común en *S. mexicana*, y se presentan desde las 9:00 hasta las 18:00 h, permaneciendo en el mismo sitio un promedio de 14 días.
- Los zánganos de *S. mexicana* pueden formar parte de dos congregaciones a la vez, lo que aumenta su probabilidad de apareamiento.
- La presencia de una reina virgen es el principal factor que induce a la formación de las congregaciones; sin embargo en la selección de un sitio de agregación no es el único factor ya que esto depende también de factores ambientales como la temperatura.
- Los zánganos producen una feromona de agregación que orienta a otros zánganos para reunirse en un sitio específico.

7. REFERENCIAS.

Altúzar A.R. 2004. Búsqueda de atrayentes para el picudo *Scyphophorus acupunctatus* Gylh. (Coleoptera: Curculionidae) en el agave tequilero. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chiapas. 41p.

Ayala R. 1999. Revisión de las abejas sin aguijón de México (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Folia Entomol. Mex.* 106:1-123

Baudry E., Solignac M., Garnery L., Gries M., Cornuet J.-M. and Koeniger N. 1998. Relatedness among honeybees (*Apis mellifera*) of a drone congregation. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 2009-2014.

Bego L.R. 1982. On social regulation in *Scaptotrigona postica* Latreille, with special reference to drone production cycles. *Bol. Zool. Univ. Sao Paulo* 7: 181–196

Beye M., Hasselmann M., Fondrk M.K., Page R.E. jr. and Omholt S.W. 2003. The gene csd is the primary signal for sexual development in the honeybee and encodes an SR-type protein. *Cell* 114: 1–20.

Biesmeijer, J. C. 1997. Abejas sin aguijón. Elinkwijk BV, Utrecht. 77 p.

Camposeco F.B. 2006. Conducta y parámetros reproductivos en *Melipona beecheii* Bennett (Hymenoptera: Meliponini) en Yucatán México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Yucatán. 50 p.

Carvalho G.A., Kerr W.E. and Nascimento V.A. 1995. Sex determination in bees. XXXIII. Decrease of xo hetero-alleles in a finite population of *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponinae). *Brazil. J. Genet. 18*: 13–16.

da Silva N.L.D., Zucchi R. and Kerr E.W. 1972. Biological and behavioural aspects of the reproduction in some especies of *Melipona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Anim. Behav.* 20: 123-132.

de Camargo C.A., 1979. Sex determination in bees. XI. Production of diploid males and sex determination in *Melipona quadrifasciata*. *J. Apic. Res.* 18**:** 77–84.

Engels E. and Engels W. 1984. Drohnen-Ansammlungen bei Nestern der Stachellosen Biene *Scaptotrigona postica*. *Apidologie* 15: 315– 328.

Engels E. and Engels W. 1988. Age-dependent queen attractiveness for drones and mating in the stingless bee, *Scaptotrigona postica*. *J. Apic. Res.* 27: 3–8.

Engels W. and Imperatriz-Fonseca V.L. 1990. Caste development, reproductive strategies and control of fertility in honeybees and stingless bees. *In* Engels W. Social insects: an evolutionary approach to castes and reproduction. Berling, Springer-Verlag. 166-230 pp.

Engels W., Engels E. and Francke W. 1997. Ontogeny of cephalic volatile patterns in queens and mating biology of the neotropical stingless bee, *Scaptotrigona postica*. *Invertebr. Reprod. Dev.* 30: 251-256.

Green C.L. and Oldroyd B.P. 2002. Queen mating frequency, maternity of males, and diploid male production in the stingless bee *Trigona carbonaria*. *Insectes Soc*. 49: 196–202.

Guzmán M.A., Rincón M. y Vandame R. 2004. Manejo y conservación de abejas nativas sin aguijón (Apidae: meliponini). Manual técnico. El Colegio de la Frontera Sur – Línea de investigación "Abejas de Chiapas". Tapachula, Chiapas, México. 40p.

Hilario S.D., Imperatriz-Fonseca V.L. and Kleinert A.M.P. 2000. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). *Rev. Bras. Biol.* 60:299-306.

Imperatriz-Fonseca V.L., Matos E.T., Ferreira F. and Velthuis H.H.W. 1998. A case of multiple mating in stingless bees (Meliponinae). *Insectes Soc.* 45: 231-233.

Käpylä M. 1974. Diurnal flight activity in a mixed population on Aculeata (Hymenoptera). *Ann. Entomol. Fenn.* 40:62-69.

Kerr W.E. 1997. Sex determination in bees (Apinae and Meliponinae) and its consequences. *Brazil. J. Genet. 20*: 601–611.

Koeniger N., Koeniger G., Griesa M. and S. Tingek, 2005. Drone competition at drone congregation areas in four *Apis* species. *Apidologie 36*: 211-221.

Koeniger G. 1988. Mating flights of honey bee drones (*Apis mellifera* L.). *Biona Report.* 6: 29–34.

Kraus F.B., Weinhold S. and Moritz R.F.A. 2008. Genetic structure of drone congregations of the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. *Insectes Soc.* En prensa.

May-Itzá W. de J. 2003. Influencia de factores climáticos sobre la actividad de vuelo de machos de *Scaptotrigona pectoralis* (Hymenoptera: Meliponini) en áreas de congregacion. III Seminario Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. Tapachula, Chiapas, México. 102-106 pp.

Michener C.D. 2000. The bees of the world. The Johns Hopkins University press. Baltimore, Maryland. 913p.

Michener C.D. 1946. Notes on the habits of some Panamanian stingless bees. *J. New York Entomol. Soc*.54: 179-197.

Monteserín R. S. 2004. Los componentes de la colmena. Castas. Dpto. de Biología de Organismos y Sistemas. Universidad de Oviedo. Pp 6-14.

Moo-Valle H., Quezada-Euán J.J.G. and Wenseleers T. 2001. The effect of Food reserves on the production of sexual offspring in the stingless bee *Melipona beechii* (Apidae, meliponini). *Insectes Soc.* 48: 1-6.

Nogueira-Ferreira F.H. and Soares A.E.E. 1998. Male aggregations and mating flight in *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae), Iheringia Sér. Zool., Porto Alegre, RS 84, 141–144.

Nogueira-Neto P. 1997. Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão. Editorial nogueirapis. São Paulo. 446 p.

Oldroyd B.P., Smolenski A., Lawler S., Estoup A. and R. Crozier, 1995. Colony aggregations in *Apis mellifera. Apidologie* 26: 119–130.

Page R. E. 1986. Sperm utilization in social insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31: 297-320.

Paxton R.J. 2000. Genetic structure of colonies and a male aggregation in the stingless bee *Scaptotrigona postica* as revealed by microsatellite analysis. *Insectes Soc.* 47: 63-69.

Roubik D.W. 1990. Mate location and mate competition in males of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). *Entomol. Gener*. 15:115-120.

Ruiz, M.C., González H.H., Leyva, J., Llanderal C.C., Cruz L.L. and Rojas J.C. 2003. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 96: 1126-1131.

Sakagami S. F. 1982. Stingless bees. In: *Social Insects.* Ed. Hermann HR. Academic Press, New York. 361–426.

Sánchez D., Kraus F.B., de Jesús Hernández M. and R. Vandame, 2007. Experience, but not distance, influences the recruitment precision in the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. *Naturwissenschaften* 94: 567–573.

Sokal R.R. and Rohlf F.J. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 3d Edition. W.H. Freeman & Company, New York.

Sommeijer M.J., J.W. van Veen and R. Sewmar, 1990. The intranidal activity of drones of *Melipona* with some remarks about drone production in stingless bees. *Actes Coll. Ins. Soc.* 6: 63–67.

Sommeijer M.J. and Bruijn L.L.M. 1995. Drone congregations apart from the nest in *Melipona favosa*. *Insectes Soc.* 42:123-127.

Sommeijer M.J. 1994. Behavioural aspects of stingless bee reproduction at individual and colony level, Proc. 5th Int. Conf. Apiculture in Tropical Climates, IBRA, Cardiff. 241–248.

Sommeijer M.J., Bruijn L.L.M. and Meeuwsen F.J.A.J. 2003. Behaviour of males, gynes and workers at drone congregation sites of the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae: Meliponini). *Entomologische Beichten.* 64: 10-15.

Strassmann J. 2001. The rarity of multiple mating by females in the social Hymenoptera. *Insectes Soc.* 48: 1-13.

van Veen J.W., Arce H. and Sommeijer M.J. 1992. Brood production of *Melipona beecheii* in relation to dry season foraging. In: *Biology and Evolution of Social Insects* (J. Billen, Ed.), Leuven University Press, Leuven (Belgium). 81–87.

van Veen J.W., Aguilar I. and Sommeijer M.J. 1994. Behaviour of drones in the stingless bee *Melipona beecheii* (Apidae: Meliponinae). In: *Les Insectes Sociaux* (A. Lenoir, G. Arnold and M. Lepage, Eds.), *Univ. Paris Nord*. Pp. 22.

van Veen J.W., Sommeijer M.J. and Meeuwsen F.J.A.J. 1997. Behaviour of drones in *Melipona* (Apidae, Meliponinae). *Insectes Soc. 44*: 435 – 447.

van Veen J.W., Sommeijer M.J and Meeuwsen F. 1999. Behaviour of drones in *Melipona* (Apidae, Meliponini) In: *Colony Reproduction in Stingless Bess*. (J. W. Van Veen, Ed). San José, Costa Rica. Pp. 29-42.

van Veen J.W. and Sommeijer M.J. 2000. Observations on gynes and drones around nuptial flights in the stingless bees *Tetragonisca angustula* and *Melipona beecheii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Apidologie* 31: 47-54.

Velthuis H.H.W., Koedam D. and Imperatriz-Fonseca V.L. 2005. The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. *Apidologie* 36: 169-185.

Wille A. and Michener C.D. 1973. The nest architecture of stingless bees with special reference of those of Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 21: 1-278.

Winston M.L. 1987. The Biology of the Honey Bee. Harvard University Press. London, England. Pp. 147-148.