

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de la conducta higiénica en colmenas de abejas *Apis mellifera* L. por el método del pinchado con dos instrumentos

Anisley Pérez Hernández, Jorge Demedio Lorenzo

Universidad Agraria de La Habana (UNAH), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

Correo electrónico: anisley_perez@unah.edu.cu.

RESUMEN: La apicultura es una ganadería menor con importante aporte a la economía y el medio ambiente. Para las abejas (*Apis mellifera* L.), la conducta higiénica es un mecanismo de resistencia natural contra las enfermedades, cuya variabilidad y heredabilidad la califican como un rasgo básico en programas de selección genética. Sin embargo, los instrumentos clásicos de evaluación requieren un gasto de tiempo que entorpece su utilización. En el presente trabajo se realiza la evaluación de este mecanismo en un Centro de Cría de Abejas Reinas mediante el método del pinchado, utilizando la aguja clásica (instrumento 1) y el instrumento 2, consistente en 100 agujas insertadas en una base de acrílico, patentado por los autores (Invención DL68 07/10/2011). Se trabajaron 15 colmenas de tipo Langstroth, durante los meses de enero a julio del año 2012. Se tomaron dos panales con cría de 16-17 días (pupas de ojos rosados) del centro de las cámaras de cría y se seleccionó un área de 100 celdas/dos panales/colmena, con uno de los instrumentos en cada panal. En el área seleccionada se puncionaron las celdas para matar a las pupas y se determinó el porcentaje de celdas limpias a las 24 horas. El apiario mostró valores medios de conducta higiénica de 90,3 % con el instrumento 1 y 92,5 % con el instrumento 2, sin diferencia significativa. El ahorro de tiempo fue de $85 \pm 5\%$ con el instrumento 2, sin el tedio que supone realizar 1 500 punciones, contra solo 15 acciones.

Palabras clave: *Apis mellifera*, conducta higiénica.

Evaluation of the hygienic behavior in honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) by the punch method with two instruments

ABSTRACT: Beekeeping is a small livestock with significant contribution to the economy and environment. For the bees (*Apis mellifera*) the hygienic behavior is a mechanism of natural resistance against diseases whose variability and heritability qualify it as a basic trait in breeding programs. However, conventional evaluation tools require time waste which hinders their use. In this work, the evaluation of this mechanism is performed in a Breeding Center of Queen Bees by the punch method, using classical needle (instrument 1) and instrument 2, consisting of 100 needles inserted into an acrylic base, patented by the authors (DL68 Invention 07/10/2011). Fifteen Langstroth hives were worked during January-July, 2012. Two honey combs with brood 16-17 days (pink-eyed pupae) were taken from the center of the brood chamber, and an area of 100 cells/two honeyscombs/hive was selected with one of the instruments in each honeycombs. In the area selected, the cells to kill the pupae were punctured and the percentage of cleaned cells was determined at 24 hours. The apiary showed mean values of 90.3% hygienic behavior using instrument 1 and 92.5% with instrument 2, without significant differences. Saving time was $85 \pm 5\%$ with instrument 2 without the tedium performing 1500 punctures only against 15 actions.

Key words: *Apis mellifera*, hygienic behavior.

INTRODUCCIÓN

En la apicultura moderna, los Centros Genéticos de Producción de Abejas Reinas (CGR) son los encargados de obtener y comercializar abejas reinas certificadas, a partir de colmenas seleccionadas como pies de cría por su fortaleza, ausencia de enfermedades, bajos índices de infestación por el ácaro parásito *Varroa destructor* y alta conducta higiénica, según el Programa Nacional de Selección Genética (1). El método de producción aplicado en Cuba es el *Doolittle* modificado, el cual contempla la selección de las colmenas «paternas» aportadoras de zánganos en la zona del emplazamiento, y las «maternas», encargadas de suministrar las larvas que darán origen a las reinas en un área distante, de manera que se garantice un alto grado de heterosis (1, 2).

En la actualidad, la peores enfermedades de las colmenas de *Apis mellifera* son la varroosis (ocasionada por el ácaro *Varroa destructor*) y las enfermedades infecciosas de la cría. En cualquier programa de selección, la presencia de manifestaciones clínicas de enfermedades infecciosas es excluyente, pero considerando que el ácaro *Varroa* está presente en todas las colmenas, se toman en cuenta los índices de infestación, ya que las colmenas con los más bajos valores deben mantener un mejor estado de salud y resentirse menos su productividad por la acción perniciosa del parásito (1, 2).

Los llamados «Mecanismos Naturales de Defensa Colectiva» de las colmenas coadyuvan a reducir la prevalencia de enfermedades infecciosas y mantener bajos índices de infestación de ectoparásitos, como el ácaro *Varroa*; de estos mecanismos, los más útiles para los programas de selección son la conducta higiénica, la baja atractividad de la cría, la supresión de la reproducción del ácaro y la sensibilidad higiénica a *Varroa*, aunque existen otros de más difícil evaluación e incierta heredabilidad (3, 4, 5).

El comportamiento o conducta higiénica es la habilidad que tienen las obreras para detectar larvas, pupas enfermas o muertas, desopercular las celdas y remover, hacia el exterior de la colonia, la cría afectada que contienen (6). Estas abejas poseen mayor sensibilidad olfatoria (7) y son capaces de discriminar entre crías normales y anormales a una baja intensidad de estímulo. Sobre este comportamiento, que es la expresión de siete *loci*, pueden influir la edad de las crías, la abundancia de abejas adultas jóvenes, crías en la colonia y la intensidad del flujo de néctar recolectado

por las abejas (8, 9). El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la conducta higiénica en colmenas *Apis mellifera* L., por el método del pinchado con dos instrumentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La conducta higiénica se determinó por el método de punción de la cría (10), modificado por Gramacho *et al.* (11) y utilizado por otros autores (3, 7, 12), con la aguja de acero inoxidable (Fig. 1a) y por el empleo del nuevo instrumento (Fig. 1b) (Patente 189/2011) (13).

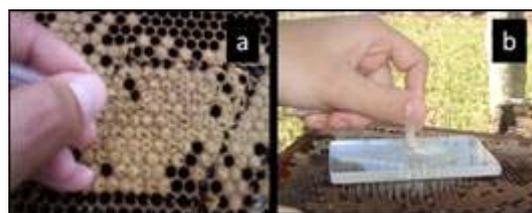


FIGURA 1. (a): Representación de instrumento 1 con aguja de acero inoxidable. (b) Representación del instrumento 2./ (a) Representation of instrument 1 with stainless steel needle. (b) Representation of instrument 2.

Para la evaluación de la conducta higiénica, se identificaron dos panales de cada una de las colmenas en estudio y se seleccionó, en cada uno, un área de 10 x 10 cm con cría operculada entre 16- 17 días de edad, para aplicar en cada área los instrumentos 1 ó 2, según correspondía (Fig. 2 a, b).

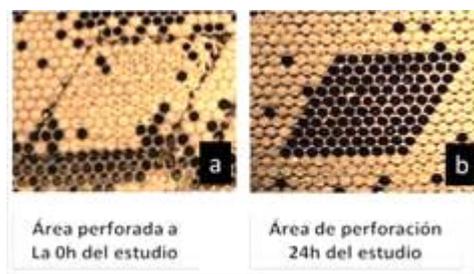


FIGURA 2. (a): Áreas donde se realizó la perforación con los instrumentos 1 y 2; (b): Representación de un área con buena conducta higiénica, después de las 24h de realizada la perforación./ (a) Areas where drilling was carried out using instruments 1 and 2. (b) Representation of an area with a good hygienic behavior, after 24h of drilling.

Se contabilizó inicialmente (cero horas de realizar la punción) la cantidad de celdas operculadas y las celdas desoperculadas con cría. Se devolvieron los panales puncionados a sus colmenas de origen y, a las 24 horas de realizada la punción, se contabilizó la cantidad de celdas desoperculadas, las que aún estaban operculadas y las que contenían crías. Se procesaron los datos por la fórmula de conducta higiénica total (CHT) (12, 14).

CHT = (Diferencia entre las celdas operculadas iniciales, celdas operculadas finales y celdas con cría a las 24 horas del estudio / celdas operculadas iniciales) X 100

Los datos fueron tabulados y analizados con el programa estadístico Statgraphics Plus 5.1. Se empleó estadística descriptiva, *Test de Student*, para comparar el tiempo invertido en el pinchado de la cría con ambos instrumentos, y comparación de Proporciones para la comparación de los valores porcentuales de la conducta higiénica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La conducta higiénica es un mecanismo de defensa colectiva de alta heredabilidad (15), y aunque no ha mostrado una especificidad significativa contra el ácaro Varroa (3), se mantiene como un rasgo imprescindible en los programas de selección y mejoramiento genético de la apicultura, siempre que estos tomen en cuenta los indicadores de salud (2). Si se considera que la varroosis es una enfermedad que, como norma, se presenta en concomitancia con diversas entidades micóticas, bacterianas y virales (5, 16), contra las cuales la alta conducta higiénica juega un papel fundamental (8, 4), no es posible que se excluya de la evaluación de un CGR, cuyas colmenas fueron seleccionadas sobre la base de un programa que contempla dicho requisito (1).

Las evaluaciones seriadas mensuales de la conducta higiénica, durante siete meses, arrojaron 91,9% con el instrumento 1 (Tabla 1) y 92,5% con el instrumento 2 (Tabla 2). Ambos valores son superiores a los reportados en abejas de origen europeo de Chile (3) en 21 colmenas, por la misma técnica del instrumento 1 y que evidenciaron un bajo y heterogéneo nivel de limpieza, con valores medios de 20-80%. Por otra parte, Castro y Medina (17) reportaron porcentaje de limpieza, de 31% en 56 colmenas africanizadas de México, utilizando la congelación con nitrógeno líquido.

A pesar de las diferencias que puede introducir la utilización de distintos métodos para el sacrificio de la

cría, los resultados obtenidos en Venezuela por Principal y D'Aubeterre (18), al evaluar 82 colmenas africanizadas aplicando la técnica de congelación (17%-24%- 59%), no se lo atribuyen a este factor. Con ese mismo método estos autores obtuvieron valores mayores en colmenas de origen europeo. Por su parte, Aguirre y Demedio (19) observaron variaciones entre dos réplicas de dos apiarios, evaluando a las 24 horas del pinchado, con intervalo de 21 días (79%- 92% y 52%- 92%), las que atribuyeron a efectos ambientales y cambios en la proporción de abejas jóvenes en las colmenas, lo que apunta a la ya señalada necesidad de realizar las evaluaciones seriadas.

El 59% de CH, considerado como un valor alto por Principal y D'Aubeterre (18) en abejas africanizadas de Venezuela, constituye una cota muy baja, solo explicable por el bajo nivel general de conducta higiénica en esas poblaciones. Es ilustrativo que el Programa de Mejoramiento Genético de Cuba (1) estableció 80% como cota mínima de selección, indicativo de un comportamiento superior en las abejas de Cuba. Si se toman como base tales referencias, los presentes resultados, en que todas las colmenas superan el 85% (Tabla 1 a, b), se pueden considerar selectas para esta característica.

En igual sentido, algunos autores (6, 14) consideran que una colonia higiénica debe remover 80% o más de la cría muerta. Sin embargo, existe un criterio diferente de otros autores (9, 20, 21) que elevan la cota hasta 95%, por lo que las colmenas del CGR que alcanzaron valores superiores a 85%, clasifican como higiénicas para estos criterios, pero si se toma en cuenta el último criterio, solo la colmena M3 resultaría higiénica y se descalifica a este apiario como «selecto».

En la elección del método a utilizar para evaluar la conducta higiénica, fueron decisivos los criterios de Espinosa-Montaña *et al.* (12), quienes determinaron que el perforado es más eficaz en cuanto a la cantidad de crías muertas removidas, más rápido, práctico y económico. Al evaluar la capacidad discriminadora, costo y facilidad de aplicación de la punción con alfiler entomológico, la congelación a -95°C con nitrógeno líquido y la refrigeración a -18°C, requieren de un gasto económico más grande.

La diversidad de los resultados observados en las Tablas 1a y 1b, puede deberse a que la reina usualmente copula con diez a diecisiete zánganos para poder llenar su espermateca, donde guarda los espermatozoides en paquetes que va utilizando en forma alterna y que pueden aportar o no la característica higiénica (22). De forma similar ocurre con las diferencias entre meses (Tabla 2), sobre las que puede estar

TABLA 1a. Comparación de la conducta higiénica entre colmenas maternas y paternas, con el instrumento 1./ *Hygienic conduct (HC) comparison between maternal and paternal hives using instrument 1.*

Colmenas Instrumento 1	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	Medias
M 1	95,7	93,3	94,6	94,4	92,1	93,5	100	94,9
M 2	90,2	90,9	94,8	95,9	94,2	97,4	98,8	91,0
M 3	100	96,7	91,1	92,5	97,6	95,3	97,5	96,0
M 4	87,4	83,8	97,6	92,6	100,0	81,4	98,8	90,7
M 5	88,0	88,5	95,8	97,3	96,7	85,7	97,3	92,0
X Maternas	88,2	89,5	94,8	94,5	96,3	89,4	98,5	93,0 a
P 1	60,6	66,7	88,6	100,0	93,9	93,3	100,0	85,5
P 2	97,9	69,6	95,2	94,7	86,0	98,5	90,1	90,7
P 3	93,9	70,6	87,1	100,0	83,2	88,2	92,4	87,1
P 4	96,8	87,0	72,5	98,7	75,0	84,3	94,1	89,7
P 5	95,4	70,8	98,9	100,0	78,6	94,6	97,4	91,0
P 6	90,1	76,1	73,8	92,7	87,8	87,6	89	86,2
P 7	97,8	78,4	96,2	100,0	92,2	84,9	91,5	94,3
P 8	100	58,2	89,1	89,9	100	82,9	100	88,4
P 9	97,9	39,4	96,6	83,1	98,8	93,1	96,7	90,1
P 10	88,6	82,0	82,3	94,7	96,7	89,7	96,8	88,5
X Paternas	91,8	70,0	89,5	95,5	89,3	89,5	94,5	90,4 b
X General	90,6	76,7	91,3	94,4	90,2	94,5	92,6	91,9

Comp. de Proporciones: F= 65,02*** (p< 0,001); EE = 0,001 (Letras distintas en la misma columna indican diferencia)

Leyenda: **Inst:** Instrumento, **M:** maternas, **P:** paternas, **X:** medias.

TABLA 1b. Comparación de CH entre colmenas maternas y paternas, con el instrumento 2./ *Hygienic conduct comparison between maternal and paternal hives using instrument 2.*

Colmenas Instrumento 2	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	Medias
M 1	88,0	81,4	94,9	93,3	100	96	98,7	90,9
M 2	92,2	84,1	95,5	93,9	88,2	96,6	93,9	93,9
M 3	96,4	97,7	94,7	95,8	92,3	93,3	100,0	96,5
M 4	88,5	82,9	98,8	86,5	97,8	97,7	100,0	92,3
M 5	83,1	89,5	100,0	95,6	91,7	88,2	100,0	94,9
X Maternas	89,2	87,3	96,7	93,0	94,6	94,4	98,5	93,9 a
P 1	85,7	94,6	89,6	94,9	100,0	87,2	92,9	91,2
P 2	95,7	85,5	90,2	95,5	88,4	93,3	98,8	92,6
P 3	92,0	86,5	79,7	83,8	87,1	75,0	100,0	85,4
P 4	96,7	94,4	95,3	67,4	89,9	81,4	87,5	88,0
P 5	96,7	95,6	94,4	78,3	89,0	94,6	90,7	92,3
P 6	94,2	90,8	97,4	95,6	95,5	92,5	94,5	93,6
P 7	88,4	87,2	91,9	91,5	96,6	96,6	87,7	91,7
P 8	89,7	67,5	99,0	88,1	100,0	96,3	86,2	91,2
P 9	76,7	76,6	94,8	93,4	98,8	96,5	95,5	91,2
P 10	93,8	96,3	96,4	98,9	97,0	95,5	96,7	94,3
X Paternas	90,9	87,7	93,1	88,7	94,4	91,6	93,1	91,8 b
X General	90,4	87,6	94,4	90,2	94,5	92,6	94,9	92,5

Comp. de Proporciones: F= 34,23*** (p< 0,001); EE = 0,001 (Letras distintas en la misma columna indican diferencia).

Leyenda: **Inst:** Instrumento, **M:** maternas, **P:** paternas, **X:** medias.

TABLA 2. Resultados de la CH de las colmenas de CGR, durante siete meses del año 2012, con los instrumentos 1 y 2./ *HC results of hives from the Breeding Genetic Center, during seven months of 2012 using instrumnets 1 and 2.*

	Colmenas	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	X general
Instrumento 1	X Maternas	88,2	89,5	94,8	94,5	96,3	89,4	98,5	93,0
	X Paternas	91,8	70,0	89,5	95,5	89,3	89,5	94,5	89,0
	X General	90,6	76,7	91,3	94,4	90,2	94,5	92,6	91,9 a
Instrumento 2	X Maternas	89,2	87,3	96,7	93,0	94,6	94,4	98,5	93,9
	X Paternas	90,9	87,7	93,1	88,7	94,4	91,6	93,1	91,8
	X General	90,4	87,6	94,4	90,2	94,5	92,6	94,9	92,5 b

Comp. de Proporciones: $F= 29,92^{***}$ ($p < 0,001$); $EE = 0,001$ (Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativas).

incidiendo. Además, el flujo nectarario enmascara en parte la CH baja, porque al aumentar este se incrementa la limpieza en la colmena, pero no para eliminar crías enfermas o muertas, sino en preparación para la recepción de néctar, aunque este es un factor que debe incidir en todas las colmenas (8).

Al existir una alta oferta de néctar y por una actitud de atesoramiento de reservas, las obreras optan por remover nidada, lo cual evita el esfuerzo de construcción de nuevas celdas y, por consiguiente, esta actividad incrementa la conducta higiénica (23). Sin embargo, las colmenas de un CGR no están sometidas al esfuerzo productivo de las comerciales y resulta poco probable que tal sustitución tenga un efecto significativo.

La principal limitante para la evaluación sistemática y masiva de la conducta higiénica de las colmenas es la disponibilidad de los medios necesarios y el tiempo que requiere tal actividad, unidos a una baja percepción del valor de esta prueba por los apicultores. El presente estudio brindó la oportunidad de comparar el instrumento tradicional de pinchado con el instrumento 2 (Tabla 3).

Se comprobó que el pinchado, celda por celda, requirió un gasto de tiempo que casi multiplicó por 10 el necesario para realizar esa misma operación con el instrumento 2. No existen antecedentes de la utilización de un medio similar para esta evaluación en las colmenas, pero resulta de interés la reducción del tiempo de ejecución (Tabla 4), factor decisivo para su utilización en la producción.

Con el nuevo instrumento sería conveniente perfeccionar el método, a pesar de que los valores medios alcanzados con ambos fueron iguales. Se debería lograr una adecuada pericia del operario y trabajar en la búsqueda de una solución intermedia, que requiera algo más de tiempo que el instrumento 2, pero mucho me-

TABLA 3. Análisis descriptivo de valores de tiempo invertido para ejecutar la prueba de CH./ *Descriptive analysis of time values spent to perform HC test.*

Estadígrafo	Instrumento 1	Instrumento 2
N	90	90
X	121,95	11,75
DE	2,033	1,691
EE	0,214	0,174
Mínimo	117,0	9,0
Máximo	127,0	16,0
Asimetría típica	-1,128	0,427
Kurtosis típica	-0,023	-0,752
CV (%)	1,667	14,045

nos que el instrumento 1, para lo cual ya se desarrolla una variante de peine con 10 agujas.

Con el instrumento 1 se evidenció una mayor uniformidad en los resultados entre meses (Tabla 5) (dos categorías diferentes en las maternas y tres en las paternas), que con el instrumento 2 (cinco en las maternas y siete en las paternas). Estos resultados se pueden considerar como la expresión de la reducción de la exactitud con el instrumento 2, a cambio de una economía del tiempo medio invertido, aunque en términos biológicos, ambos ubican a las colmenas en una posición similar respecto a las exigencias del programa de selección (1).

Al considerar el total de evaluaciones de conducta higiénica realizadas con ambos instrumentos, las colmenas maternas alcanzaron una media de 93,51%, superior al 90,58% de las paternas (Tabla 5). Ambos grupos estuvieron a un nivel superior de los determinados en colmenas no selectas (7, 16, 22).

TABLA 4. Tiempo (segundos) invertido en el pinchado de la cría con ambos instrumentos./ *Time (seconds) spent in the breeding punch with both instruments.*

<i>Réplica</i>	<i>Inst. 1</i>	<i>Inst. 2</i>	<i>Réplica</i>	<i>Inst. 1</i>	<i>Inst. 2</i>	<i>Réplica</i>	<i>Inst. 1</i>	<i>Inst. 2</i>	
1	124	11	31	123	13	61	122	11	
2	121	13	32	123	11	62	124	12	
3	120	12	33	121	12	63	123	11	
4	118	15	34	119	10	64	121	12	
5	124	13	35	118	11	65	124	10	
6	117	15	36	125	13	66	125	14	
7	122	16	37	123	12	67	123	10	
8	125	13	38	124	15	68	121	9	
9	119	12	39	121	13	69	122	12	
10	127	13	40	122	12	70	123	14	
11	121	12	41	123	10	71	123	9	
12	126	13	42	120	12	72	124	9	
13	123	11	43	119	14	73	123	12	
14	121	10	44	121	11	74	122	10	
15	119	10	45	123	11	75	121	13	
16	118	9	46	125	12	76	121	12	
17	124	12	47	121	11	77	120	13	
18	120	13	48	122	13	78	122	14	
19	119	12	49	121	12	79	124	12	
20	122	10	50	122	13	80	122	11	
21	124	12	51	123	11	81	121	12	
22	121	13	52	125	14	82	121	10	
23	118	12	53	120	12	83	124	12	
24	122	14	54	122	13	84	124	11	
25	119	9	55	123	11	85	123	10	
26	125	9	56	121	10	86	122	9	
27	123	12	57	122	9	87	123	11	
28	121	13	58	121	9	88	121	12	
29	124	15	59	122	10	89	122	14	
30	117	12	60	123	12	90	123	9	
(Reduce \approx 89% del tiempo)						Medias =>		121,95 a (2,03 min.)	14,05 b (0,23 min.)

Test de Student: $p < 0,05$

TABLA 5. Valores de CH con ambos instrumentos, por colmenas maternas y paternas, y por meses./ *HC values with both instruments by maternal and paternal hives and by months.*

COLMENAS	Media %		INSTRUMENTO 1	INSTRUMENTO 2
MATERNAS	93,0	93,9	F= 10, 77 (a, b) EE= 0,01	F= 22, 01 (a, b, ab, c, d) EE= 0,02
PATERNAS	90,4	91,8	F= 57, 18 (a, b, c) EE= 0,02	F= 42, 04 (a, b, ab, abc, bc, c, d) EE= 0,01

Comparación de Proporciones ($p < 0,001$)

Teniendo en cuenta estos resultados, debe considerarse que para los programas de selección se deben establecer criterios propios de cada lugar, sobre la base de la media y los valores extremos de expresión de la CH en la población dada; evaluación que no se ha realizado en Cuba, ni en ningún otro país, por el gasto de tiempo y recursos que supone tal tarea con los métodos utilizados hasta el presente.

REFERENCIAS

1. Ministerio de la Agricultura de Cuba (MINAG). Programa de mejoramiento genético de la abeja *Apis mellifera* L. con abejas localmente adaptadas al ácaro *Varroa destructor*. EEAPI. Cuba, 2002.
2. Ministerio de la Agricultura de Cuba (MINAG). Programa de mejoramiento genético de la abeja *Apis mellifera* con abejas localmente adaptadas al ácaro *Varroa destructor*. CIAPI, Cuba, 2014.
3. Araneda X, Pérez R, Castillo C, Medina, L. Evaluation of the hygienic behavior of *Apis mellifera* L. Related to the level of infestation of *Varroa destructor* Anderson & Trueman. Idesia, Chile. 2008;26(2):56-67.
4. Arechavaleta-Velasco M, Hunt SM, Camacho-Rea C. Binary trait loci that influence the expression of honey bee hygienic behavior. Rev Mex Cienc Pec. 2011;2(3):45.
5. Argentina. Varroasis. Apinetla Disponible en: <http://www.apinetla.com.ar> [Consultado: 20/08/04 1:07 PM], 2004.
6. Gramacho K, Gonçalves L. Melhoramento Genético de abelhas com base no comportamento higiênico. XIV Congreso brasileiro de apicultura CONBRAPI Brasil. 2002. pp. 188-190.
7. Palacio MA, Figini E, Ruffinengo S, Rodríguez EN, Del Hoyo M, Bedascarrasbure E. Resultados de la selección para el comportamiento higiénico en poblaciones de abejas *Apis mellifera* L. sin control de fecundación. 2012. <http://www.vet-uy.com/articulos/apicultura/050/0014/apic014.htm>.
8. Principal J, Barrios CJ, D'Aubeterre R, Puzzar S, García de la Rosa SB, Fuselli SR. Comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) en apiarios del estado Lara, Venezuela. Zootecnia Trop. 2008;26(2):167-173.
9. Spivak M, Reuter G. Resistance to American Foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred For hygienic behavior. Apidologie. 2001;(32):555-565.
10. Newton D, Ostasiewski N. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). Am Bee J. 1986;126:278-281.
11. Gramacho K, Gonçalves L, Rosenkranz P, De Jong D. Influence of body fluid from pin-killed honey bee pupae on hygienic behavior. Apidologie. 1999;30:367-374.
12. Espinosa-Montaña L, Guzmán-Novoa E, Sánchez-Albarrán A, Montaldo H, Correa-Benítez A. Comparative study of three assays to evaluate hygienic behaviour in honey bee colonies (*Apis mellifera* L.). Vet Mex. 2008;39(1):9-14.
13. Pérez Hernández A, Demedio J, Amoró E. Solicitud de Invención No.CU/P/2011/189. Autor de Invención DL 68 07/10/2011. 2012.
14. Palacio M, Figini E, Ruffinengo S, Rodríguez E, Del Hoyo M, Bedascarrasbure E. Resultados de la selección para comportamiento higiénico en poblaciones de abejas (*Apis mellifera* L.) sin control de fecundación. ISSN 0301-5092. Vet Mex. 2008;39(1):22-28.
15. Guzmán-Novoa E. Manual para la cría de abejas reinas. Programa Nacional de Apicultura del INIFAP, SAGARPA. 2012. pp. 1-18.
16. Xiaolong XY. Effects of Varroa mites on the immune system of honey bees. 7th Annual Environmental Chemistry Student Symposium Program & Abstracts. Pennsylvania State University. March 19-20 2004. Disponible en: <http://www.geosc.psu.edu/~jmoore/ecs/abstract-vol/abstracts/abstracts3.html#yang> [Consultado: 30/09/04 11:35 AM], 2004.
17. Castro V, Medina C. Comportamiento higiénico en abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) de Zacatecas. XI Jornada de Investigación Especial. Nueva Época. Revista de Investigaciones Científicas. 2007;3(2). ISSN: 1870-8196.
18. Principal J, D'Aubeterre, R. Variación en la tasa de infestación de *Varroa destructor* y su relación con el tamaño de la cría en colonias de *Apis*

- mellifera L. Gaceta de Ciencias veterinarias. Disponible en: http://pegasus.ucla.edu.ve/ccv/revista/Vol_9/infestaci%F3n%20de... Consultado: 3 noviembre 2010. 2008.
19. Aguirre JL, Demedio J. Un fenómeno apícola único en Baja California Sur, México. *Apitec*. 2005;52:4-7.
20. Kamel S, Strange J, Sheppard W. A scientific note on hygienic behavior in *Apis mellifera lamarckii* and Influence of parasitism on flight behaviour and on the loss of infested foragers. [en línea]: Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften. 2004 [fecha de consulta: 22 de mayo 2006]. Disponible en: http://www.digitalnaknjiznica.bf.uni-lj.si/dd_kralj_jasna.pdf. 2003.
21. Ibrahim, A. y Spivak, M. The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanism of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie*. 2006;37:31-40.
22. Palacio M, Figini E, Ruffinengo S, Rodríguez E, Del Hoyo M, Bedascarrasbure E. Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behavior and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie*. 2000;(31):471-478.
23. Janmaat A, Winston M. Removal of *Varroa Jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. *Apidologie*. 2000;31:377-385.

Recibido: 28-11-2013.

Aceptado: 18-3-2014.