



## **Hábitos higiénicos de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) en Cuba**

### **Hygienic behaviour of *Apis mellifera* (hymenoptera: apidae) in Cuba**

**Autores:** Alejandro Pérez Morfi<sup>1</sup>, Adolfo Pérez Piñeiro<sup>1</sup>, Ariám Jiménez<sup>2,3</sup>.

1-Centro de Investigaciones Apícolas, Carretera Cano-Wajay, Km 0, El Cano, Arroyo Arenas, La Lisa, La Habana, Teléfono 202 0890.

2-Facultad de Biología, Universidad de La Habana; Calle 25, # 455 entre J e I, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba.

3-Avian Research and Conservation Institute; 411 NE 7<sup>th</sup> Street, Gainesville, Florida 32601.

[genetica1@ciapi.minag.cu](mailto:genetica1@ciapi.minag.cu)

**Recibido:** 17- 6 - 2017

**Aprobado:** 29 - 6- 2017

## RESUMEN

El comportamiento higiénico de las abejas melíferas es un rasgo asociado con la resistencia a *Varroa destructor* y a otras enfermedades de la cría. Actualmente Cuba está mejorando su stock genético a través de la selección y cría de abejas melíferas más productivas e higiénicas a través del Proyecto de Selección y Mejora de la Abeja en Cuba. Como punto de partida, este estudio caracterizó el estado del comportamiento higiénico en 4039 colmenas comerciales y reproductoras (maternas y paternas) de todo el país en 2013. El número de colmenas que eliminaron un bajo porcentaje de crías (<50%) fue significativamente menor que el observado para colmenas con porcentajes medios y altos, para una mediana nacional del 74.3%. Siete de las catorce provincias evaluadas mostraron porcentajes de remoción de crías por encima del 80%. Los resultados enfatizan el gran potencial de las abejas cubanas para resistir enfermedades de cría y por lo tanto, para llevar adelante un programa de selección y reproducción en este sentido, especialmente debido a que los tratamientos químicos a las colmenas están prohibidos en Cuba.

**Palabras claves:** hábitos higiénicos / *Varroa destructor* / abejas cubanas.

## ABSTRACT

Honey bees' hygienic behavior is a trait associated with resistance to *Varroa destructor* and other brood diseases. Currently, Cuba is improving its genetic stock through the selection and breeding of hygienic and more productive honey bees through the Selection and Improvement of Honey Bees Project. As a starting point, this study characterized the condition of the hygienic behavior in 4039 commercial and breeding colonies from all over the country in 2013. The number of colonies that removed low percentage of brood (< 50 %) was significantly lower than those with median and high percentages, with a national median of 74.3 %. Seven of the fourteen provinces evaluated, showed median percentages of removed brood above 80 %. The results stress the great potential of Cuban honey bees' colonies to resist brood diseases and therefore to carry up a selection and breeding program especially due to the fact that chemicals treatments to colonies are banned in Cuba.

**Keywords:** hygienic behavior / *Varroa destructor* / Cuban honey bees

## INTRODUCCIÓN

Los servicios de polinización que ofrecen las abejas, especialmente *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), son indispensables para mantener la salud del ecosistema y la economía mundial (Steffan-Dewenter y Tschamntke, 1999; Morse y Calderone, 2000). Sin embargo, prácticas incorrectas en la apicultura han conducido a la aparición y diseminación de nuevas enfermedades en todo el mundo que han causado grandes desastres (Gajger y col., 2014). En la actualidad *A. mellifera* se ve afectada por una amplia gama de enfermedades: ácaros, hongos, virus, protozoos, bacterias, bacilos, entre otros (Morse y Flottum, 1997). No obstante, el ácaro ectoparasitario *Varroa destructor* (Anderson y Trueman, 2000) es actualmente la mayor amenaza para la apicultura a nivel mundial (Rosenkranz et al., 2010). Este parásito se reproduce dentro de las celdas donde se desarrollan las crías y se alimenta de su hemolinfa lo que provoca una pérdida significativa de peso en la futura abeja adulta. El daño inducido por el ácaro reduce el desempeño en el vuelo y el tiempo de vida de la abeja adulta (Duay y col., 2002; De Jong y col., 1982). Aunque el cambio de huésped de *V. destructor* de *Apis cerana* a *Apis mellifera* ocurrió en la primera mitad del siglo pasado (Oldroyd, 1999), se detectó por primera vez en Cuba en 1996 (González, 1996) considerándose la causa principal de la muerte de más de 10 000 colmenas entre 1996 y 1997, en sólo dos provincias (Verde M. y Chan S., nd).

El comportamiento higiénico se considera como un mecanismo asociado con la resistencia a parásitos y enfermedades de la cría como *V. destructor*. Las abejas adultas individuales que expresan el rasgo higiénico destapan y eliminan las crías enfermas de los panales antes de que el patógeno sea transmisible, lo que reduce la propagación de la infección en la colmena (Rothenbuhler, 1964). Debido a su importancia como respuesta inmune de la colmena, se han creado varias líneas de abejas higiénicas (Büchler y col., 2010; Rinderer et al., 2010).

Dado que hasta el momento no se han encontrado compensaciones negativas entre caracteres relacionados con la producción y la selección hacia el comportamiento higiénico (Spivak y Reuter, 2001; Wielewski y col., 2012; Nicodemo et al., 2013; Pérez-Morfi et al., 2015), en 2013 Cuba inició el Proyecto de Selección y Mejora de la Abeja en Cuba. El objetivo principal de este proyecto es mejorar la productividad de miel de las poblaciones comerciales de abejas melíferas y su capacidad para resistir enfermedades. Sin embargo, hasta la fecha no hay información publicada sobre el nivel actual de expresión del comportamiento higiénico en las poblaciones cubanas de *A. mellifera*. Por tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar el estado de la expresión de los hábitos higiénicos de las

colmenas comerciales cubanas de *A mellifera*. Dicha información es fundamental para establecer los objetivos futuros del actual Proyecto Abejas, Selección, Mejora y Manejo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La expresión de la conducta de hábitos higiénicos se realizó a través de la estimación del porcentaje de remoción de crías muertas en una muestra de colmenas seleccionadas al azar en 14 provincias cubanas (N = 4 039; Tabla I). Las evaluaciones fueron llevadas a cabo en 2013 para todas las provincias del país excepto la provincia de La Habana, la cual no se incluyó debido a la baja actividad de la apicultura en la zona. La evaluación del comportamiento higiénico fue realizada por los técnicos de la representación provincial de la Empresa Cubana de Apicultura. Las evaluaciones abarcaron tanto colmenas reproductoras (maternas para obtener larvas para injertos, y paternas para la cría de zánganos) como colmenas de producción de miel.

Tabla I: Cantidad de colmenas de *Apis mellifera* evaluadas para hábitos higiénicos en Cuba en el año 2013. Las colmenas fueron evaluadas como parte del Proyecto Selección y Mejora de la Abeja en Cuba.

Provincia	Tipo de colmena			Total
	Maternas	Paternas	Producción	
Pinar del Río	12	2	200	214
Mayabeque	25	93	5	123
Artemisa	19	0	23	42
Matanzas	30	43	79	152
Cienfuegos	16	56	119	191
Villa Clara	8	19	933	960
Santi Spiritus	14	36	928	978
Ciego de Avila	18	101	537	656
Camagüey	48	0	211	259
Las Tunas	8	6	191	205
Holguín	8	26	43	77
Granma	55	8	0	63
Santiago de Cuba	26	38	7	71
Guantánamo	12	30	6	48
Total	299	458	3282	4039

Para cuantificar el comportamiento higiénico se utilizó la prueba del pinchado de la cría (“pin-kiled”; Palacio et al., 2000, Nicodemo et al., 2013). Se sacrificó la cría operculada en un área de 100 celdas utilizando un alfiler entomológico, mientras que otra área de cría operculada del mismo tamaño se utilizó como control. En ambas áreas se registraron: 1) la cantidad de celdas operculadas el día 0 (X), la cantidad de celdas operculadas luego de 24 horas (Y) y la cantidad de celdas con restos de cría luego de 24 horas (Z) (Palacio et al., 2000). A partir de estos datos se calculó el porcentaje de remoción de crías como la expresión de hábitos higiénicos (HH). El porcentaje de remoción de crías ( $HH_F$ ) se calculó de la siguiente manera:

$$HH_P = ((X-Y-Z) / X) * 100;$$

$$HH_C = ((X-Y-Z) / X) * 100;$$

$$HH_F = HH_P - HH_C$$

Siendo  $HH_P$  el porcentaje de remoción de cría sacrificada en el área de prueba,  $HH_C$  el porcentaje de remoción de cría en el área de control y  $HH_F$  el porcentaje de remoción definitivo de la colmena. Las colmenas con  $HH_F \geq 80\%$  se consideraron higiénicas.

### **1.1. Análisis estadístico**

Dado que los datos no cumplieron las premisas de normalidad (Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk:  $W = 0.931$ ;  $P < 0.001$ ) y homogeneidad de la varianza (Prueba de Bartlett:  $K^2_{13} = 3212.483$ ;  $P < 0.001$ ), el análisis se llevó a cabo utilizando estadística paramétrica. Siendo la mediana y los rangos intercuartílicos (IQR) los estadísticos de tendencia central y dispersión utilizados.

A través de una prueba de Prueba de Bondad de Ajuste se analizó si la muestra nacional presentó variaciones para tres categorías de porcentaje de remoción de cría (bajo:  $> 50\%$ , medio:  $50-79\%$ , alto:  $80-100\%$ ). Se condujo este mismo análisis para evaluar el número de colmenas higiénicas por tipo de colmenas (materna, paterna y de producción). La prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de Dunn para comparaciones múltiples se utilizó para evaluar las diferencias en  $HH_F$  entre tipos de colmenas.

La similitud entre provincias teniendo en cuenta los hábitos higiénicos por tipo de colmena fue analizada a través de un escalado multidimensional no métrico (NMDS) Para ello se confeccionó una matriz de similitud utilizando la distancia Euclidiana. El índice de similitud Euclidiano ofrece una medida de la distancia entre dos objetos en un espacio multidimensional (Quinn y Keough, 2002). Esta medida se seleccionó porque las variables cumplen con las premisas de haberse medido en escalas similares y no tener valores cero (Quinn y Keough, 2002). Este análisis tuvo en cuenta el número de colmenas maternas, paternas y de producción de 11 provincias. Tres provincias fueron

excluidas del análisis NMDS debido a la ausencia de datos para colmenas paternas (Camagüey, Artemisa) y de producción (Granma).

La mayor parte del análisis se realizó en el programa R (R Development Core Team, 2012). La prueba de Dunn se llevó a cabo en Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., 2007) y el NMDS en Primer v6 (Clarke y Gorley, 2006). Las diferencias estadísticas se consideraron significativas para  $P < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

La mediana nacional del porcentaje de remoción de crías en el país fue del 74,3% (IQR: 57,6 – 84,8%). La distribución del número de en función del porcentaje de remoción de crías mostró una tendencia a la expresión de este rasgo por encima del umbral seleccionado ( $HH_F \geq 80\%$ , Fig. 1). Las colmenas con porcentajes bajos (<50%) estuvieron significativamente menos representadas en la muestra (Prueba de Bondad de Ajuste:  $\chi^2_2 = 682.68$ ;  $P < 0,001$ ). Las colmenas higiénicas representaron el 39.5% de la muestra nacional.

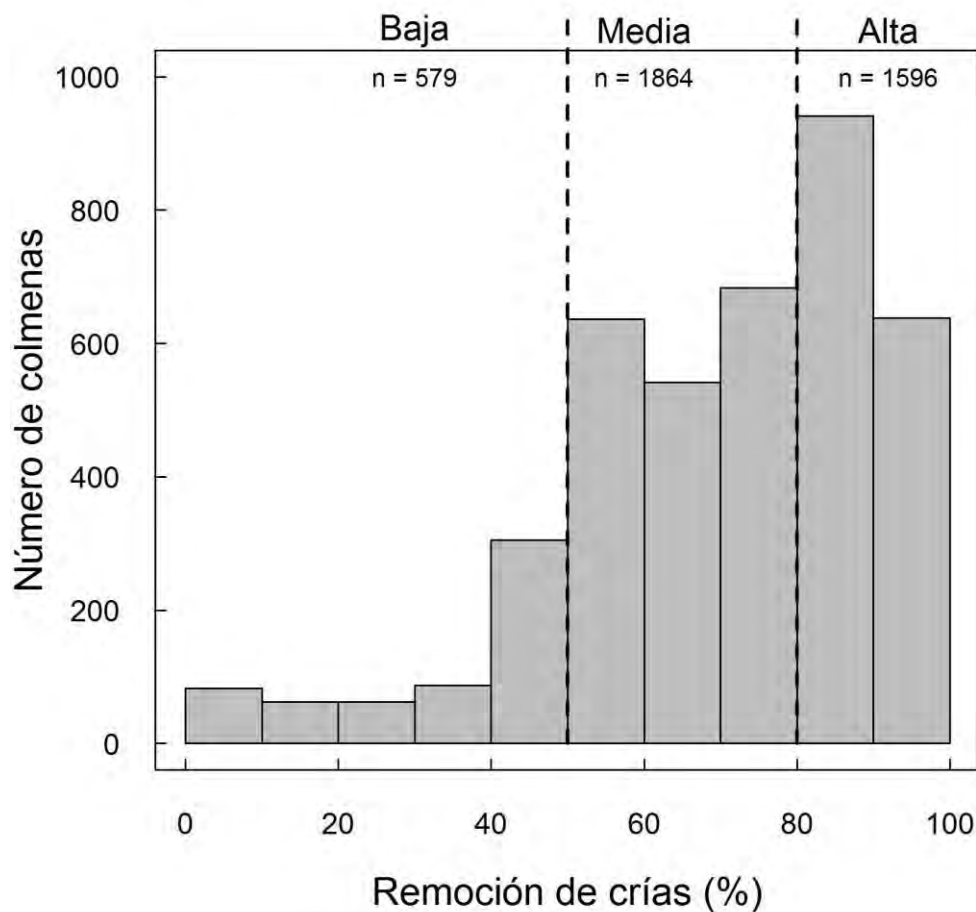


Figura 1: Número de colmenas según porcentaje de remoción de crías de *Apis mellifera* en Cuba durante el año 2013. Las líneas discontinuas representan la división en tres categorías de porcentaje de remoción de crías: bajo: >50 %, medio: 50-79 % y alto: 80-100 %.

El HH<sub>F</sub> mostró variaciones según el tipo de colmena (Prueba de Kruskal-Wallis,  $X^2_2 = 76.45$ ,  $P < 0.001$ ). Las colmenas maternas mostraron mayor HH<sub>F</sub> que las colmenas paternas y de producción, en ese orden (Fig. 2, Prueba de Dunn:  $Z = 5,45$  y  $P < 0,001$ ;  $Z = 8,62$  y  $P < 0,001$ ). El número de colmenas higiénicas varió según el tipo de colmena (Prueba de Bondad de Ajuste:  $X^2_2 = 1185.15$ ;  $P < 0,001$ ). Proporcionalmente, hubo más colmenas maternas higiénicas (0,64) que paternas (0,49) y de producción (0,36).

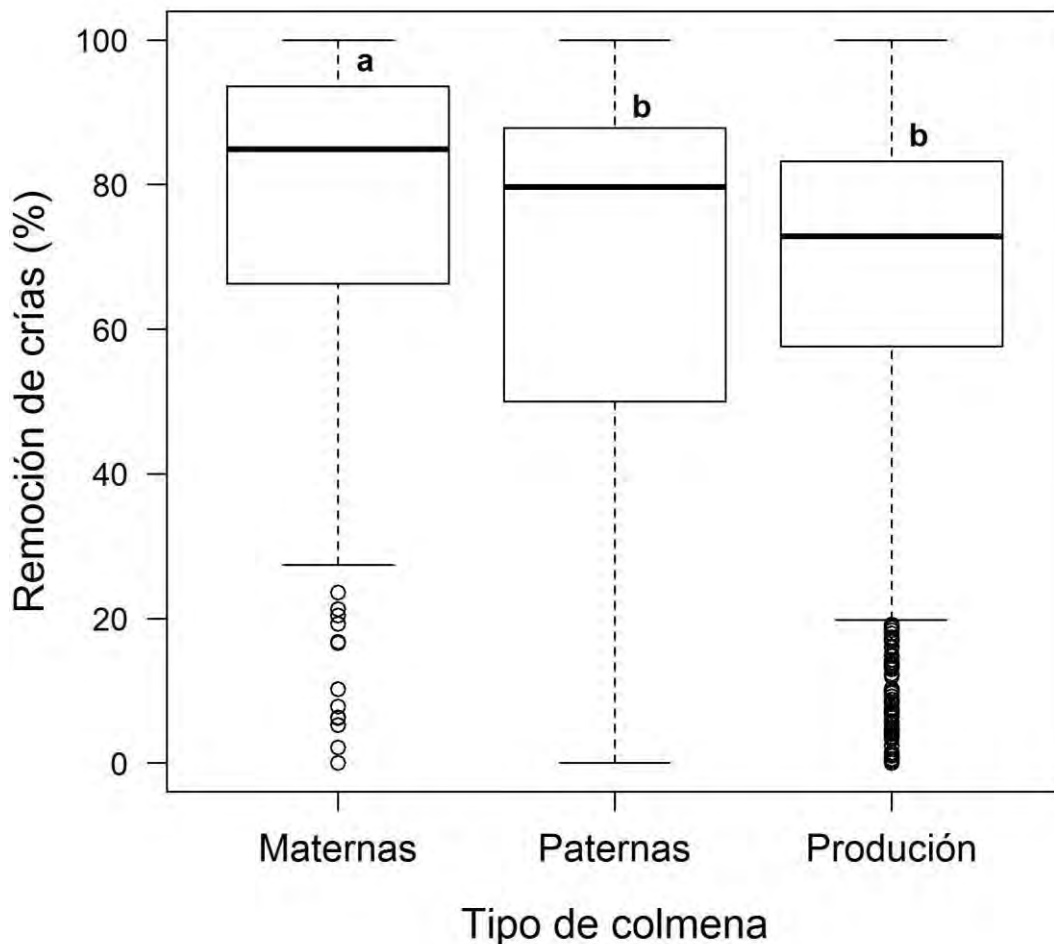


Figura 2: Variación del porcentaje de remoción de crías de *Apis mellifera* en Cuba en colmenas maternas (N = 299), paternas (N = 458) y de producción (N = 3282), según datos obtenidos por el Proyecto de Selección y Mejora de la Abeja en Cuba en el año 2013. Las letras destacan diferencias significativas entre tipos de colmenas según la Prueba de Dunn ( $Z= 5.45$  y  $P < 0.001$ ;  $Z= 8.62$  y  $P < 0.001$ ).

El análisis general de la expresión del comportamiento higiénico mostró variaciones entre provincias. Pinar del Río, Mayabeque, Camagüey y Granma fueron las únicas provincias que mostraron valores  $HH_F$  superiores al 80% (Tabla II). Otras tres provincias (Artemisa, Ciego de Ávila y Holguín) mostraron valores medios de  $HH_F$  por encima del umbral del 80%, pero no para los cuartiles. El resto de las provincias generalmente mostraron un porcentaje de remoción por debajo del umbral para los criterios de higiene.

Tabla II: Valores de mediana y rangos intercuartílico (RIC) del porcentaje de remoción de crías por provincia y tipo de colmena de *Apis mellifera* en Cuba entre enero y diciembre de 2013. Las provincias fueron ordenadas de mayor a menor a partir de la columna para valores Generales de HH<sub>F</sub>. SI: sin información.

Provincias	Mediana (RIC)			
	Maternas	Paternas	Producción	General
Camagüey	95,0 (91,6-97,9)	NI	95,0 (92,7-97)	94,9(92,2-96,9)
Mayabeque	96,0 (92,1-99,0)	94,4 (88,2-97,8)	95,7 (94,7-95,9)	94,6(89,7-98,8)
Artemisa	78,6 (69,6-93,4)	NI	93,3 (89,0-95,7)	92,0(78,7-94,2)
Granma	91,1 (86,7-96,8)	94,7 (91,3-96,1)	NI	91,6(87,4-96,7)
Pinar del Río	88,0 (85,0-89,1)	89,7 (88,9-90,5)	90,8 (88,5-92,0)	90,7(88,3-92,1)
Holguín	71,1 (50,8-85,0)	55,0 (35,9-69,8)	97,0 (88,2-98,0)	82,4(57,9-97,8)
Ciego de Ávila	84,5 (83,3-87,5)	84,6 (82,0-89,0)	80,9 (78,7-83,1)	81,4(79,1-84,2)
Matanzas	63,0 (35,7-83,3)	34,6 (15,4-63,6)	84,0 (78,1-90,5)	76,0(51,2-85,9)
Cienfuegos	79,7 (76,2-84,0)	76,2 (21,8-81,6)	51,2 (18,9-80,8)	73,1(20,3-80,9)
Santi Spiritus	45,1 (38,4-61,2)	48,8 (37,6-66,2)	66,7 (59,0-74,5)	65,9(58,4-74,2)
Santiago de Cuba	59,5 (48,6-66,3)	45,0 (29,6-66,3)	82,9 (57,2-89,1)	58,4(36,2-69,0)
Villa Clara	62,8 (40,9-67,2)	59,2 (56,5-65,0)	57,1 (50,0-66,7)	57,2(50,0-66,7)
Las Tunas	13,5 (7,5-41,2)	26,4 (9,0-39,2)	58,4 (22,7-73,6)	56,8(18,4-73,4)
Guantánamo	55,6 (31,7-72,5)	47,5 (15,3-77,3)	26,0 (0,3-52,6)	50,5(19,9-71,8)

El análisis de similitud entre las provincias mostró dos grupos principales, que agrupan ocho de las once provincias tenidas en cuenta para este análisis, y tres grupos independientes que se corresponden con provincias individuales (NMDS, Stress = 0.01, Fig. 3 A). Cada grupo incluye provincias con un grado de similitud  $\geq 70\%$ . El grupo 1, formado por Pinar del Río, Mayabeque y Ciego de Ávila, tiene HH<sub>F</sub>  $\geq 80\%$  independiente del tipo de colmena (Tabla II, Fig. 3). El grupo 2 incluye provincias con valores intermedios de HH<sub>F</sub> como Matanzas, Villa Clara, Sancti Spiritus, Holguín y Santiago de Cuba. En este caso, los valores más altos de HH<sub>F</sub> se corresponden principalmente con las colmenas de producción. Las provincias de Cienfuegos, Las Tunas y Guantánamo quedan aisladas de cualquier forma de agrupamiento debido a valores notablemente bajos de HH<sub>F</sub> (Fig. 4)

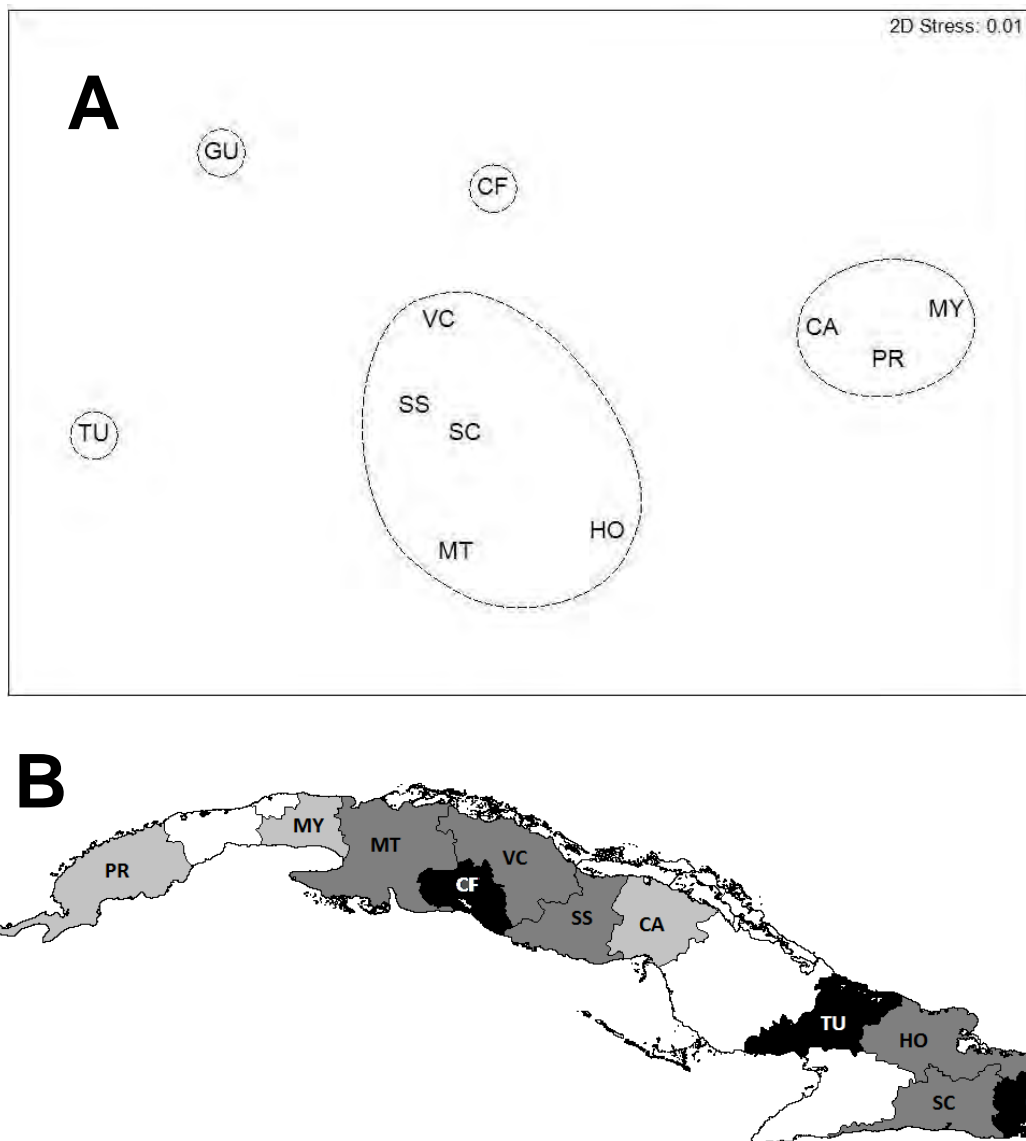


Figura 4: **A:** Escalado multidimensional no métrico (índice de similitud Euclidiano) para el porcentaje de remoción de crías en 11 provincias cubanas durante el año 2013 en tres tipos de colmenas de *Apis mellifera* (maternas, paternas y producción); **B:** representación en el mapa de los grupos obtenidos a partir del NMDS, grupo 1 (gris claro): PR: Pinar del Río, MY: Mayabeque and CA: Ciego de Ávila; grupo 2 (gris oscuro): MT: Matanzas, VC: Villa Clara, SS: Santi Spíritus, HO: Holguín, SC: Santiago de Cuba; grupos independientes (negro): CF: Cienfuegos TU: Las Tunas GU: Guantánamo. Los grupos incluyen provincias con un grado de similitud  $\geq 70\%$ .

## **DISCUSIÓN**

La mediana nacional del porcentaje de remoción de crías de 74.3% acentúa el potencial de las abejas melíferas cubanas para resistir naturalmente las enfermedades de la cría como *V. destructor*. Los datos muestran claramente la alta incidencia de la expresión del comportamiento higiénico en las colmenas cubanas. Según Spivak y Reuter (1998), aproximadamente el 10% de las poblaciones comerciales de abejas melíferas en EE. UU. Son higiénicas. Esta cifra es superada en las poblaciones de abejas cubanas donde se encontró que 39.5% de las colmenas, casi cuatro veces más, expresan este comportamiento en los niveles deseados.

Tal resultado tiene como principal causa la estrategia nacional adoptada en la práctica de la apicultura en la década de los 90 cuando el ácaro fue detectado por primera vez en Cuba. Las condiciones restrictivas impuestas por la crisis económica en ese momento impidieron la compra de suficientes productos acaricidas para todas las colmenas. Por lo tanto, Cuba adoptó la llamada Lucha integrada propuesta por el Centro de Investigaciones Apícolas (CIAPI, Verde M. y Chan S., sf) como una estrategia nacional, que se basó en los siguientes principios: 1) darle un manejo adecuado a cada colmena; 2) uso de panales de zánganos como trampas para el ácaro; y 3) impulsar la selección natural, reproduciendo sólo aquellas colmenas que sobrevivieran a la infestación por *V. destructor*.

La intención de esta estrategia era reducir el número de ácaros por colmena mediante el manejo del apicultor en la colmena, al tiempo que se generalizaban los rasgos de resistencia subyacentes en las poblaciones de abejas melíferas cubanas. Sin embargo, posterior al establecimiento de la Lucha Integrada no se llevaron a cabo programas oficiales de mejoramiento o selección en Cuba, pero la cultura de "sólo reproducir las colmenas más fuertes y productivas" se estableció entre los apicultores cubanos. Es probable que esta sea la principal causa de los resultados de las altas tasas de remoción encontradas en este trabajo, probando también la posibilidad de una apicultura libre de tratamientos, aún más cuando los químicos a largo plazo han demostrado ser ineficientes (Kochansky et al., 2001 Spreafico y col., 2001). Dada la ineficiencia comprobada de los tratamientos químicos para el control de ácaros y el aumento de los requisitos del mercado, en Cuba su uso en las colmenas ha estado prohibido durante más de 10 años.

Otro factor que podría estar influyendo en el alto nivel de expresión del comportamiento higiénico entre las colmenas de abejas melíferas cubanas es el efecto de la variabilidad genética (Lapidge y col., 2002). La abeja melífera cubana es el resultado de la hibridación entre *A. mellifera mellifera*

introducida en el país alrededor de 1764 y *A. mellifera ligustica* introducida entre 1940 y 1950 (Pérez-Piñeiro, 2007). A pesar de que han habido varios estudios que describen la expresión del comportamiento higiénico considerando las subespecies en abejas melíferas (revisado en Spivak, 1996; Bak y col., 2010), es ampliamente aceptada como el factor más importante para la adaptabilidad y el desempeño, la variabilidad genética de la población y en mayor escala, de la especie (Oldroyd y col., 1992; Tarpay 2003; Myerscough y Oldroyd, 2004; Oldroyd y Fewell, 2007). En el momento de la detección de *V. destructor* en Cuba en 1996, habían pasado más de 20 años sin importación oficial de abejas melíferas en el país. Pero en los montes existían amplias poblaciones salvajes de abejas melíferas. Es posible especular que las colmenas silvestres, constantemente sujetas a la selección natural, fueron y siguen siendo un factor importante en la generalización de rasgos de resistencia como el comportamiento higiénico.

Sin embargo, se requiere un esfuerzo mayor y más sistemático para la selección de las colmenas reproductoras ya que la salud y el rendimiento de las colmenas de producción dependen de ellas. Aunque una gran cantidad de colmenas maternas fueron higiénicas, es necesario hacer que este carácter sea extensivo a cada colmena reproductora. Por lo tanto, también es importante intensificar la mejora del material genético de las colmenas paternas, ya que éstas mostraron menores tasas de remoción que las colmenas maternas. Para tener éxito en la expresión óptima del comportamiento higiénico en la colmena, es necesario lograr que entre el 50 y el 75% de los zánganos con los que se aparean las abejas reinas presenten los genes involucrados en la expresión del comportamiento higiénico en su genoma (Trump y col, 1967; Arathi y Spivak, 2001). Esto coincide con las variaciones encontradas entre las provincias, destacando que en aquellas donde las colmenas reproductoras tenían  $HH_f > 80\%$ , las colmenas de producción también eran higiénicas, a diferencia de las provincias donde las colmenas maternas y paternas no tenían esta característica. Aumentar la presencia del rasgo higiénico en las colmenas paternas es un objetivo alcanzable porque un sólo grupo de reinas hermanas, hijas de una reina higiénica, se puede usar para controlar el pedigrí paterno. Alternativamente, se pueden usar varios grupos de reinas hermanas, cada una de ellas derivada de una colmena paterna higiénica (Büchler y col., 2013).

Por otro lado, las diferencias entre provincias son el resultado aleatorio del trabajo empírico de los criadores y apicultores en cada una de ellas. Antes de 2013, la prueba del pinchado de la cría o cualquier otra prueba para evaluar el comportamiento higiénico de las abejas no se había utilizado ampliamente en Cuba, sólo habían sido llevados a cabo estudios a pequeña escala en Mayabeque (Sanabria, 2007). Sin embargo, actualmente *V. destructor* no se considera una causa primaria de

muerte de colmenas. Por lo tanto, en aquellas provincias donde el rasgo higiénico no mostró valores altos para considerar las colmenas como higiénicas, es altamente probable que otras formas de resistencia que no se tomaron en cuenta en este estudio estén presentes. Pero como el comportamiento higiénico también es efectivo contra otras enfermedades de la cría, es deseable y posible generalizarlo sin afectar la variabilidad genética a largo plazo apoyándose en la evaluación de la variabilidad genética de las poblaciones de *A. mellifera* y promoviendo un intercambio controlado y sistemático de reinas entre criadores.

## **CONCLUSIONES**

- Existe una elevada expresión de los hábitos higiénicos en las poblaciones comerciales de abejas melíferas cubanas, siendo las colmenas maternas las que mayores porcentajes de remoción de crías presentaron
- Pinar del Río, Mayabeque y Ciego de Ávila fueron las provincias con la mayor expresión de los hábitos higiénico para los tres tipos de colmenas evaluadas
- Es posible llevar a cabo un programa de mejoramiento genético de las abejas melíferas cubanas en vistas a generalizar caracteres de resistencia contra *Varroa destructor* sin necesidad de recurrir a la importación de abejas

## **RECOMENDACIONES**

Llevar a cabo estudios sobre la presencia de otras formas de resistencia frente a *Varroa destructor* en las poblaciones de abejas melíferas cubanas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores desean agradecer a la Empresa Cubana de Apicultura (APICUBA) por el financiamiento y a su representación provincial, especialmente los técnicos en genética que con perseverancia y paciencia hicieron posible este trabajo.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Anderson, D.L. y Trueman J.W.H (2000) *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. Exp. Appl. Acarol. 24: 165-189,

2. Arathi, H.S. y Spivak, M. (2001) Influence of colony genotypic composition on the performance of hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera* L). Anim. Behav. 2: 57-66.
3. Bak B., Wilde J. y Siuda M. (2010) Comparison of hygienic behavior between five honey bee breeding lines. J. Apic. of Sci. 54: 17-24.
4. Büchler R., Andonov S., Bienefeld K., Costa C., Hatjina F., Kezic N., Kryger P., Spivak M. y Uzunov A., Wilde J. (2013) Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. J. Apic. Res.52: 1-30.
5. Büchler, R., Berg S. y Le Conte Y. (2010) Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. Apidologie. 41: 393–408.
6. Clarke, K.R. y R.N. Gorley (2006) PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK, 192 pp.
7. De Jong D., De Jong P.H y Goncalves L.S. (1982) Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *V. jacobsoni*. J. Apicult. Res. 21, 165–216.
8. Duay, P., de Jong D. y Engels W. (2002) Decreased flight performance and spermproduction in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. Genet. Mol. Res. 1: 227–232.
9. Gajger I.T., Kolodziejek J., Bakonyi T. y Nowotny N. (2014) Prevalence and distribution patterns of seven different honeybee viruses in diseased colonies: a case study from Croatia. Apidologie. 45: 701-706
10. González A. (1996) Reporte preliminar del ácaro *Varroa jacobsoni* Oud. en tres apiarios de la provincia de Matanzas, Informe Técnico, Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba.
11. Kochansky J., Wilzer K. y Feldlaufer M. (2001) Comparison of the transfer of coumaphos from beeswax into syrup and honey. Apidologie 32: 119–125.
12. Lapidge, K., Benjamin P. y Spivak M. (2002) Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. Naturwissenschaften. 89: 565–568.
13. Morse R. A. y Flottum K. Eds. (1997) Honey Bee Pests, Predators, & Diseases. Editorial A.I. Root Company, Medina, Ohio, U.S.A., 718 pp.
14. Morse R. y Calderone N. (2000) The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. Bee Culture. 128: 15.
15. Myerscough M.R. y Oldroyd B.P. (2004) Simulation models of the role of genetic variability in social insect task allocation. Insect. Soc. 51: 146–152

16. Nicodemo D., De Jong D., Couto R. y Malheiros E. (2013) Honey bee lines selected for high propolis production also have superior hygienic behavior and increased honey and pollen stores. *GMR*. 12: 6931-6938.
17. Oldroyd B.P., (1999) Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees. *Trends Ecol. Evol.* 14: 312–315
18. Oldroyd B.P. y Fewell J.H. (2007) Genetic diversity promotes homeostasis in insect colonies. *Trends in Ecology & Evolution*. 22: 408–413.
19. Oldroyd B.P., Rinderer T.E., Harbo J.R. y Buco S.M. (1992) Effects of intracolony genetic diversity on honey bee (Hymenoptera, Apidae) colony performance. *Annals of the Entomological Society of America*. 85: 335–343.
20. Palacio A., Figini E., Ruffinengo S., Rodriguez E., Del Hoyo M. y Bedascarrasbure E.L., (2000) Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behavior and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie*. 31: 471-478.
21. Pérez-Morfi A., Pérez-Piñero A. y Jiménez A. (2015) Relation between hygienic behavior of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and honey production. *Apiciencia*. 17: 18-29.
22. Pérez-Piñero A. (2007). *Manual de Apicultura*, Agrinfor La Habana, Cuba.
23. Quinn G. y Keough M. (2002) *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*, Editorial Cambridge University Press, New York, U.S.A., 537 pp.
24. R Development Core Team (2012) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
25. Rinderer T., Harris J., Hunt G. y de Guzman L. (2010) Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie*. 41: 409–424.
26. Rosenkranz P., Aumeier P. y Ziegelmann B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *J. of Invt. Pat.* 103: S96–S119.
27. Rothenbuhler W.C. (1964) Behavior genetics of nest cleaning in honeybees. I. Responses of four inbred lines to disease killed brood. *Animal Behavior*. 12: 578-583.
28. Sanabria Cruz J.L. (2007) Índices de infestación, estatus racial y expresión de mecanismos de resistencia en colmenas sin control antivarroa (PhD Tesis) Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba
29. Spivak M. (1996) Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*, *Apidologie*. 27: 245-260.

30. Spivak M. y Reuter G. (1998) Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie*. 29: 291-302.
31. Spivak M. y Reuter G. (2001) *Varroa destructor* Infestation in Untreated Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies Selected for Hygienic Behavior. *Apiculture and Social Insects*. 94: 326-331.
32. Spreafico M., Eördegh F., Bernardinelli I. y Colombo M. (2001) First detection of strains of *Varroa destructor* resistant to coumaphos. Results of laboratory tests and field trials. *Apidologie*. 32: 49–55.
33. StatSoft, Inc. (2007) STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
34. Steffan-Dewenter I. y Tschardt T. (1999) Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia*. 121: 432–440.
35. Tarpy D.R. (2003) Genetic diversity within honeybee colonies prevents severe infections and promotes colony growth. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*. 270: 99–103.
36. Trump, R.F., Thompson V.C. y Rothenbuhler W.C. (1967) Behavior genetics of nest cleaning in honeybees. V. Effect of previous experience and composition of mixed colonies on response to disease-killed brood. *J. Apic. Res.* 6: 127-131
37. Verde M. y Chan S. (n.d.) Estrategia de lucha integrada para el control de *Varroa*. Resultados y experiencia cubana. <http://foro-de-apicultura-hispanoamericano.175.n7.nabble.com/attachment/51/0/LuchaIntegrada.pdf>. (accessed on 5 may, 2017)
38. Wielewski P., De Alencar Arnaut De Toledo V., Martins E.N., Costa-Maia F.M., Faquinello P., Lino-Lourenco D.A. y Sereia, M.J. (2012) Relationship between hygienic behavior and *Varroa destructor* mites in colonies producing honey or royal jelly. *Sociobiology*. 59: 251–274.