Apiciencia Vol.XVII, No.2, 2015, ISSN: 1608-1862, pág.18-29, mayo-agosto

Relación de los hábitos higiénicos de *Apis mellifera* (hymenoptera: apidae) con la producción de miel

Relation between hygienic behaviour of *Apis mellifera* (hymenoptera: apidae) and honey production

Autor(es): Lic. Alejandro Pérez Morfi[1], MSc. Adolfo Pérez Piñeiro[1], Lic. Ariám Jiménez[2]

1-Centro de Investigaciones Apícolas, Carretera de El Cano a El Chico km/0.Arroyo Arenas, La Lisa, La Habana, Cuba. Teléfono: 72020890.

2-Universidad de La Habana, Facultad de Biología, Museo de Historia Natural "Felipe Poey". San Lázaro y L, Plaza de la Revolución.

genetica1@ciapi.minag.cu

Recibido: 9 - 6 - 2015

Aprobado: 6 - 7- 2015

RESUMEN

Los hábitos higiénicos constituyen una conducta importante para prevenir la propagación de enfermedades de la cría de *Apis mellifera* y es una de las principales formas de resistencia contra el ácaro *Varroa destructor*. Actualmente a través del Proyecto de Selección y Mejora de la Abeja en Cuba se trabaja en la mejora del material genético con el objetivo de explotar abejas más productivas, resistentes a las enfermedades y dóciles. No obstante, es necesario determinar si existe una compensación negativa entre los hábitos higiénicos y otros caracteres de interés del proyecto como la producción de miel y el área de postura. Por tanto, en este estudio se analizó la relación entre la expresión de la conducta higiénica y la producción de miel. El experimento se llevó a cabo en 26 colmenas en las que se evaluó la expresión de los hábitos higiénicos a través del método de pinchado de la cría y la producción de miel pesando todos los panales extraídos por colmena. El porcentaje de remoción de crías no influyó sobre la producción de miel de las colmenas y sólo explicó el 1,3 % de la variación de este índice productivo. Se confirmó la posibilidad de criar abejas altamente higiénicas sin afectar la producción de miel.

Palabras clave: hábitos higiénicos, *Varroa destructor*, producción de miel, *Apis mellifera*

ABSTRACT

The hygienic behaviour of the honey bee is important for preventing the spread of brood's diseases in the colony, therefore is one of the main traits of resistance against *Varroa destructor*. Currently, Cuban beekeeping through the Honey Bee Selection and Improvement Project, is trying to improve its genetic stock to work with bees more productive, disease resistant and gentle. Therefore, it is necessary to assess any possible effects of the hygienic behavior on other traits of interest. The aim of this study was to analyze the relation between the expression of the hygienic behaviour and the honey production. The experiment was carried out in 26 colonies on which were assessed the expression of the hygienic behaviour through the pin-killed method and the honey production weighting each comb extracted from each colony. The percentage of removed brood did not influenced on the honey production and only explained the 1.3 % of the variation. It was confirmed that is possible to rear hygienic bees without affecting the honey production.

Keywords: hygienic behavior, *Varroa destructor*, honey production, *Apis mellifera.*

INTRODUCCIÓN

La interacción parásito-hospedero constituye un eje central de los estudios ecológicos y evolutivos actuales (Sheldon y Verhulst, 1996). Las continuas amenazas provocadas por los parásitos han propiciado la evolución de una amplia diversidad de adaptaciones fisiológicas y conductuales en los hospederos (Toft y col., 1991). Estas adaptaciones dirigidas a actuar como medidas preventivas y de control de los patógenos son conocidas como estrategias inmunes y pueden ser tanto individuales como sociales (Cotter y Kilner, 2010). Sin embargo, las estrategias inmunes traen asociadas un costo (Freitak y col., 2003, Cotter y col., 2010). Un factor común en todo tipo de respuesta adaptativa con función inmunológica es que su operatividad requiere de recursos (ej. energía, disponibilidad de nutrientes) que en otras condiciones el huésped hubiese podido usar en otra función (Cotter y col., 2011). Considerar que la respuesta inmune de un organismo está sujeta a la optimización de las necesidades de otras demandas, es de vital importancia en las acciones de manejo genético en los animales domesticados como *Apis mellifera* L.

Entre las estrategias inmunes presentes en *A. mellifera*, se destacan adaptaciones conductuales como el uso de propóleos (Simone-Finstrom y Spivak, 2010), el acicalamiento (Flores y col., 1998) y la presencia de hábitos higiénicos (Boecking y Spivak, 1999). Los hábitos higiénicos en *A. mellifera* han sido objeto de una apreciable atención en las últimas décadas (Rothenbuhler, 1964, Arathi y col., 2000) a raíz de los devastadores efectos provocados por el ácaro parásito *Varroa destructor* (Anderson y Trueman, 2000, Guzmán-Novoa y col., 2010). Esta conducta es una de las principales formas de resistencia a las enfermedades de la cría en colmenas de *A. mellifera* y consiste en la habilidad de las obreras en detectar larvas parasitadas, desopercular las celdas selladas y remover la cría enferma o muerta de su interior (Rothenbuhler, 1964). De esta forma, las abejas interrumpen el ciclo reproductivo de *V. destructor* y otros patógenos limitando su crecimiento y diseminación (Rosenkranz y col., 2010). Los hábitos higiénicos son una conducta con una base genética. Es un carácter cuantitativo determinado por siete loci, donde cada uno controla del 9 al 15% de la variación fenotípica (Lapidge y col., 2002).

Debido a su importancia los hábitos higiénicos son ampliamente estudiados con el fin de obtener líneas de abejas higiénicas y determinar el compromiso que se establece con otras conductas de la especie (Büchler y col., 2010). Por ejemplo, Andere et al. (2001) no

encontraron asociación entre el comportamiento defensivo y los hábitos higiénicos en *A. mellifera*, lo que sugiere que no existe una compensación negativa entre la selección de abejas higiénicas y su agresividad, o sea, es posible seleccionar abejas higiénicas y poco agresivas. Sin embargo, los resultados referentes a la producción de miel no son concluyentes. Spivak y Reuter (1998) encontraron que las colmenas seleccionadas como higiénicas produjeron más miel que otras colmenas comerciales. Sin embargo en un estudio posterior no encontraron diferencias en la producción de miel entre colmenas higiénicas y no higiénicas (Spivak y Reuter, 2001).

Actualmente en Cuba se lleva a cabo el Proyecto de Selección y Mejora de la Abeja del cual uno de los objetivos es tratar de optimizar el material genético promoviendo la crianza de abejas higiénicas a través de apareamiento libre. De esta forma, se desea aumentar la presencia de esta conducta en las colmenas cubanas sin afectar su variabilidad genética. No obstante, es necesario esclarecer si esta conducta compromete la producción de miel bajo las condiciones ambientales en que normalmente se desarrollan las actividades apícolas en Cuba. El objetivo del presente estudio es evaluar la influencia de la expresión de los hábitos higiénicos sobre la producción de miel en colmenas de *A. mellifera*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Para este experimento se escogieron 26 colmenas al azar, pertenecientes a dos apiarios (13 colmenas por apiario) localizados, uno en Güines en la provincia Mayabeque (Apiario 1) y otro en Guanabacoa, provincia La Habana (Apiario 2). La distancia entre apiarios fue considerada suficiente como para asumir independencia entre estos y que por tanto no haya solapamiento de las zonas de pecoreo. Debido a que una colmena abarca una superficie de 28 km^2, el espacio donde se desarrolló el experimento se consideró grande y heterogéneo. El área donde se localizó el Apiario 1 se caracterizó por presentar, principalmente, vegetación arbustiva seguida por parches de bosque semicaducifolio y palmar. El Apiario 2 se encontró rodeado principalmente por terrenos cultivados y de vegetación secundaria, seguido de vegetación arbustiva y bosques de galería.

El experimento se realizó durante la cosecha de invierno (diciembre a febrero), que en las zonas de localización de los apiarios comprende principalmente las floraciones de *Turbina corymbosa* L. (Campanilla blanca, Solanales: Convulvulaceae) y *Viguiera dentata* HBK. (Romerillo de costa, Asterales: Asteraceae). La floración de estas especies

constituye la principal fuente de néctar en todo el país en invierno, por lo que las condiciones en las que se encontraban estos apiarios son representativas de Cuba para ese momento del año. En ambos apiarios se realizaron tres castras, la primera preparando las colmenas para recibir la cosecha, esto es, que tuvieran una cantidad mínima de miel antes de que comenzara la floración, y por tanto que no afectara el resultado de la producción y el experimento. En las otras dos castras se midió la productividad, dada en kilogramos de miel por colmena. Los apiarios 1 y 2 tuvieron 58 y 63 días de producción respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Fechas de castras por apiario para el análisis de la relación entre la expresión de la conducta higiénica y la producción de miel de *Apis mellifera*.

Apiarios y número de colmenas	**Castra de preparación**	**Castra 1**	**Castra 2**
Apiario 1 (n = 13)	21/11/2013	19/12/2013	18/1/2014
Apiario 2 (n = 13)	30/11/2013	22/12/2013	1/2/2014

La productividad de miel se determinó a partir de la diferencia entre la masa de los panales antes de castrar y la media de los mismos (N=30) después de ser castrados (Büchler y col., 2013). La masa de los panales se midió mediante el uso de una balanza digital de mano (Bill Dance, error ± 0,01 kg). Dos semanas después de la última castra se evaluó el grado de expresión de los hábitos higiénicos. Se utilizó el margen de tiempo de dos semanas con el objetivo de que las colmenas se recuperaran de la castra ya que este proceso constituye una fuerte perturbación en el interior de las mismas.

Se utilizó el porcentaje de remoción de cría como medida de la expresión del comportamiento higiénico. Para determinar el porcentaje de remoción de cría se empleó el método de pinchado de la cría (“pin-killed”), mediante el cual se registra el número de crías muertas eliminadas del panal (Palacio y col., 2000, Palacio y col., 2010, Nicodemo y col., 2013). El método consiste en la selección, en un panal, de dos áreas de 100 celdas (10 x 10 celdas) de cría operculada con pupas de ojos rojos. En una de estas áreas se sacrificó la cría utilizando un alfiler entomológico (área de prueba), mientras que la otra se utilizó como control para cuantificar la remoción natural de la cría sin ser sacrificada. En ambas áreas se contó el número de celdas operculadas el día 0 (X), el número de celdas operculadas luego de 24 horas (Y) y el número de celdas con restos de cría luego de 24 horas (Z). A partir de estos datos se calculó el porcentaje de remoción de crías de la siguiente forma:

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

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

$HH_F = HH_P - HH_C$

Donde HH_P es el porcentaje de remoción de cría sacrificada en el área de prueba, HH_C el porcentaje de remoción de cría en el área control y HH_F el porcentaje de remoción definitivo de la colmena. Se consideró una colmena higiénica cuando el porcentaje de remoción de crías sacrificadas (HH_F) fue ≥ 80% (Palacio y col., 2000).

Análisis y procesamiento de datos

El análisis estadístico se realizó en el programa R (R Development Core Team, 2012). Dado que los datos primarios no cumplieron con la premisa de heterocedasticidad, se realizaron análisis estadísticos no paramétricos. Consecuentemente, se empleó la mediana y sus cuartiles (1^{er} y 3^{er} cuartil) como estadísticos de posición central y dispersión, respectivamente. Se consideraron diferencias significativas para valores de $P < 0,05$.

La producción de miel y los porcentajes de remoción de cría entre apiarios se compararon a través de una prueba U de Mann-Whitney. El efecto de la remoción de crías sobre la producción de miel de las colmenas se analizó mediante modelos aditivos generalizados ("GAM" por sus siglas en inglés). *A priori*, se establecieron dos modelos competitivos. El modelo más parametrizado consideró el efecto aditivo del apiario y la remoción de crías sobre la producción de miel (Modelo 1: Producción = Apiario + Remoción de crías). El segundo modelo, sólo tuvo en cuenta el efecto de la remoción de cría (Modelo 2: Producción = Remoción de crías). Se utilizaron el criterio de validación cruzada generalizado (GCV) y el criterio informativo de Akaike (AIC) para determinar cuál de los modelos se ajustó mejor a los datos. El modelo con menor valor de AIC y GCV fue considerado como el mejor candidato (Zuur y col., 2009).

RESULTADOS

La producción total de miel y el porcentaje de remoción de crías no evidenciaron diferencias significativas entre apiarios (Prueba U de Mann-Whitney; Producción de miel: W = 112, P = 0,169; Remoción de crías, W = 70, P = 0,479). La mediana de la producción de miel fue de 29,1 kg/colmena (1^{er} y 3^{er} cuartil: 23,1 - 39,8 kg/colmena), mientras que la mediana del porcentaje de remoción de crías fue de 26,0 % (1^{er} y 3^{er} cuartil: 13,7 - 46,5 %). Ninguna de las colmenas evaluadas fue higiénica, pues mantuvieron porcentajes de remoción de cría inferiores al 80 %.

Tanto los valores del criterio informativo de Akaike (AIC) como el criterio de validación cruzada generalizada (GCV) confirmaron que la variable "Apiario" no fue importante para explicar las variaciones en la productividad de miel de la colmena (Modelo 1: Producción = Apiario + Remoción de crías, AIC = 205,36, GCV = 148,11; Modelo 2: Producción = Remoción de crías, AIC = 203,96, GCV = 139,33). El resultado del mejor modelo aditivo (Modelo 2) mostró que el porcentaje de remoción de crías no influyó significativamente sobre la producción de miel de las colmenas (F = 0,02, P = 0,927; Fig. 1). La remoción de crías solo explicó el 1,3 % de la variación de la producción de miel. El análisis de los residuales del modelo reveló que estos no se alejaron de una distribución normal (Prueba Shapiro-Wilks, W = 0,936, P = 0,106) lo que validó el uso de este tipo de modelo no lineal.

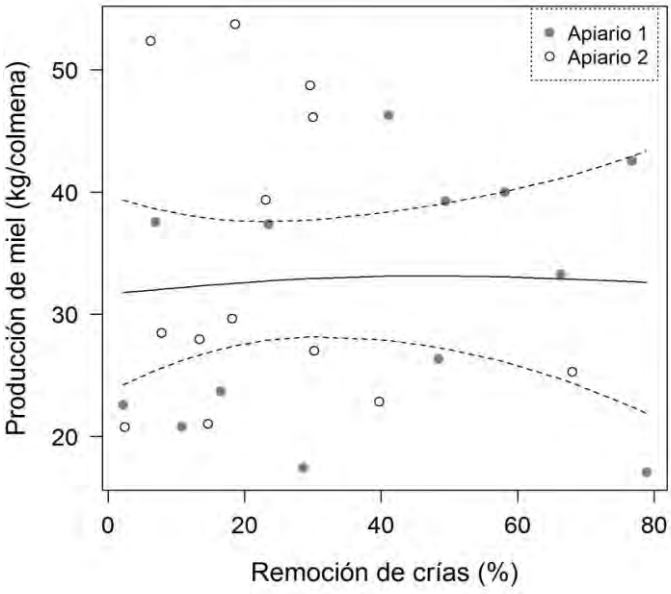


Figura 1: Relación entre la expresión de hábitos higiénicos (porcentaje de remoción de crías) y la producción de miel (kg/colmena) en dos apiarios de *Apis mellifera* ubicados en las provincias de Mayabeque y La Habana respectivamente. La curva de predicción obtenida a través de un modelo aditivo generalizado (línea continua) muestra que el porcentaje de remoción de cría no tiene efecto sobre la producción de miel. Las líneas de puntos representan el intervalo de confianza al 95 % del modelo de regresión.

DISCUSIÓN

El estudio inequívocamente reveló que en las colonias experimentales no existió relación entre la expresión de los hábitos higiénicos y la producción de miel de las colmenas. Los resultados hallados en este estudio coinciden a los documentados por Spivak y Reuter

(2001) quienes no encontraron diferencias en la producción de miel entre colmenas higiénicas y no higiénicas. Un resultado así parece indicar la ausencia de un compromiso negativo entre la expresión de hábitos higiénicos y la productividad de las colmenas. Por tanto, es posible seleccionar colmenas higiénicas y productivas.

La producción de miel hallada en esta investigación se encuentra en el rango de lo documentado para Cuba, dado que el rendimiento medio en 2013 fue de 42,1 kg de miel/colmena (Oficina Nacional de Estadística e Información de la República de Cuba, 2015). Sin embargo, si bien la expresión de

los hábitos higiénicos demostró no influir sobre la producción de miel, es obvio que otros factores, no medidos en este estudio, fueron los responsables de la alta variabilidad detectada en la productividad de las colmenas. De ahí que variables como la densidad de flores, la distancia entre las colmenas y las fuentes de néctar o la cantidad y calidad del néctar, pueden ser de mayor relevancia que la posible compensación entre la expresión de la conducta deseada (hábitos higiénicos) y la productividad.

De cualquier forma, los resultados del presente estudio no deben considerarse totalmente definitivos. Esta investigación persiguió evaluar la influencia de la expresión de los hábitos higiénicos sobre la productividad en las condiciones a las que están sometidos los apiarios cubanos. Por lo tanto, no existió una selección *a priori* de las colmenas a evaluar sino que estas fueron seleccionadas al azar. Lo anterior propició que no se incluyeran colmenas higiénicas. Aunque se abarcó un amplio rango de valores de porcentajes de remoción de crías, el no incluir colmenas higiénicas puede no haber influido en el resultado final alcanzado. La expresión de los hábitos higiénicos está directamente relacionada con la fortaleza de la colmena (Stanimirovic y col., 2005), por tanto las colmenas higiénicas de forma general tienen mayor cantidad de abejas. Esto posibilita que exista un equilibrio entre la cantidad de abejas jóvenes que llevan a cabo los hábitos higiénicos (15-17 días de edad; Arathi y col., 2000) y la cantidad de abejas pecoreadoras (≥19 días de edad). Por tanto, en colmenas higiénicas no se debe afectar el proceso productivo debido a la expresión de los hábitos higiénicos; no así en colmenas débiles o con menor población donde una menor cantidad de abejas debe realizar las mismas funciones.

Un aspecto importante a analizar son las implicaciones que pueda tener para el organismo la selección genética artificial y con ella la endogamia. Esta última puede afectar negativamente varios aspectos del desempeño físico de una gran variedad de organismos ya que puede provocar reducción de la viabilidad, fecundidad, ritmo de

crecimiento o eficacia fisiológica (Thornhill, 1993, Keller y Waller, 2002). En el caso de las abejas, desde el punto de vista apícola, hasta el momento no se han observado afectaciones en características importantes como la producción de miel y propóleos (Spivak y Reuter, 2001, Nicodemo y col., 2013) o en el comportamiento defensivo (Andere y col., 2001) al seleccionar individuos higiénicos. Sin embargo, otras variables no evaluadas hasta ahora pudieran modificarse al aumentar la homocigocis. Hasta el momento de la diseminación de *V. destructor,* los hábitos higiénicos y otras formas de resistencia contra este parásito, no estaban ampliamente generalizadas en las poblaciones de abejas. Ejemplo de ello es que en Estados Unidos 11 años después de la entrada de este ácaro sólo el 10 % de las poblaciones de abejas comerciales expresaban los hábitos higiénicos (Spivak y Reuter, 1998). Lo anterior puede analizarse desde tres puntos de vista: i) antes de la llegada de *V. destructor* no existía la presión selectiva requerida para que los hábitos higiénicos se generalizaran; ii) la relación costo/beneficio era muy alta y la presencia de esta conducta en las poblaciones de abejas no representaba grandes beneficios; iii) a través del manejo adecuado de la colmena y el tratamiento con medicamentos era posible controlar las enfermedades de la colmena. Cualquiera que sea la causa, se debe prestar atención a cuáles pueden ser las implicaciones a largo plazo de la cría selectiva de abejas higiénicas en Cuba y en el mundo. De forma preventiva se podría potenciar también la expresión de otras formas de resistencias como el acicalamiento o la supresión de la reproducción del caro (SMR por sus siglas en Inglés; Flores y col., 1998; Harbo y Harris, 2005). Además, se puede estimular el flujo genético entre poblaciones de abejas a través del intercambio de reinas entre apicultores de diferentes regiones del país.

CONCLUSIONES

El porcentaje de remoción de cría no influye con la producción de miel de la colmena, por lo que es posible criar abejas higiénicas y altamente productivas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo de Yurisander Rodríguez y Jorge Rodríguez por permitir aplicar esta investigación en sus colmenas. También a Raúl y Arminda por la confianza y el cuidado de nuestras abejas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andere, C., Palacio M., Delgado P.F., Figini E., Rodriguez E.M., Colombani M. y Bedascarrasbure E*. Relationship between defensive and hygienic behavior in a honeybee Apis mellífera (L) population*, Proceedings 37mo Congreso Internacional de Apicultura, Apimondia 28 Oct – 1 Nov 2001, Durban, Sur África. ISBN: 0-620-27768-8

Arathi H.S, Burns I. y Spivak M. *Ethology of hygienicbehaviour in the honey bee Apis mellifera L. (Hymenoptera:Apidae): behavioural repertoire of hygienic bees. Ethology*. 2000; 106: 365-79.

Boecking, O y Spivak M*. Behavioral defenses of honey bees against Varroa jacobsoni Oud. Apidologie*. 1999; 30: 141-158.

Büchler R., Andonov S., Bienefeld K., Costa C., Hatjina F., Kezic N. et al. *Standard methods for rearing and selection of Apis mellifera queens.* Journal of Apicultural Research. 2013; 52(1): 1-29

Büchler R., Berg S. y *Le Conte Y. Breeding for resistance to Varroa destructor in Europe.* Apidologie. 2010; 41(3): 393–408.

Cotter, S.C. y Kilner, R.M. *Personal immunity versus social immunity*. *Behavioral* 413 Ecology*,* 2010; 21: 663-668.

Cotter, S.C., Raubenheimer, D., Simpson, S.J. y Wilson, K. *Macronutrient balance mediates trade-offs between immune function and life history traits.* Functional ecology. 2011; 25: 186-198.

Cotter, S.C., Topham, E., Price, A.J.P. y Kilner, R.M. *Fitness costs associated with mounting a social immune response*. Ecology Letters. 2010; 13: 1114-1123.

Flores J.M., Ruiz J.A., Ruz J.M, Puerta F., Campano F., Padilla F. y Bustos M. *El grooming en Apis mellifera iberica frente a Varroa jacobsoni Oud.* Arch. Zootec. 1998; 47: 213-218.

Freitak D., Ots I., Vanatoa A. y Horak P. *Immune response is energetically costly in white cabbage butterfly pupae.* Proceedings of the Royal Society of London Series 434 B-Biological Sciences. 2003; 270: S220-S222.

Guzmán-Novoa E., Eccles L., Calvete Y., Mcgowan J., Kelly P.G. y Correa-Benitez A. Varroa destructor is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (Apis mellifera) colonies in Ontario, Canada. 2010; 41: 443–450.

Harbo J.R. y Harris J.W. *Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees*. Journal of Apicultural Research. 2005; 44(1): 21–23.

Keller, L.F. y Waller, D.M. *Inbreeding effects in wild populations*. Trends in Ecology and Evolution. 2002; 17: 230–241.

Lapidge K., Benjamin P. y Spivak M. *Seven suggestive quantitative trait loci influence higienic behavior of honey bees*. Naturwissenschaften. 2002; 89: 565–568.

Nicodemo, D., De Jong D., Couto R. y Malheiros E. *Honey bee lines selected for high propolis production also have superior hygienic behavior and increased honey and pollen stores*. GMR. 2013; 12(4): 6931-6938.

Oficina Nacional de Estadística e Información de la República de Cuba (ONEI). *Indicadores seleccionados de la apicultura.* [fecha de consulta: 28 de mayo de 2015]. Disponible en: http://www.one.cu/aec2012/esp/20080618_tabla_cuadro.htm

Palacio, A., Figini E., Ruffinengo S., Rodriguez E., Del Hoyo M. y Bedascarrasbure *E.L. Changes in a population of Apis mellifera L. selected for hygienic behaviour and its relation to brood disease tolerance.* Apidologie. 2000; 31(4): 471-478.

Palacio, A., Rodríguez E., Bedascarrasbure E., Gonçalves L. y Spivak M. *Hygienic behaviors of honey bees in response to brood experimentally pin-killed or infected with Ascosphaera apis*. Apidologie, 2010; 41(6): 602–612.

R Development Core Team. R: *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, 2012. URL http://www.R-project.org/.

Rosenkranz P., Aumeier P. y Ziegelmann B. *Biology and control of Varroa destructor.* J. of Invt. Pat. 2010; 103: S96–S119.

Rothenbuhler W.C. Behaviour genetics of nest cleaning in honeybees. I. *Responses of four inbred lines to disease killed brood.* Animal Behavior. 1964; 12: 578-583.

Sheldon B.C. y Verhulst S. *Ecological immunology: costly parasite defence and trade-offs in evolutionary ecology.* Trend in Ecology and Evolution. 1996; 11(8): 317-321.

Simone-Finstrom M. y Spivak M. *Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees.* Apidologie. 2010; 41: 195-311.

Spivak M. y Reuter G. *Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary.* Apidologie.1998; 29: 291-302.

Spivak, M. y Reuter G. Varroa destructor Infestation in Untreated Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies Selected for Hygienic Behavior. Apiculture and Social Insects. 2001; 94: 326-331.

Stanimirovic, Z., Stevanovic J. y Cirkovic D. *Behavioural defenses of the honey bee ecotype from sjenica – pester against Varroa destructor*. Acta Veterinaria (Beograd). 2005; 55(1) 69-82.

Thornhill, N.W. *The Natural History of Inbreeding and Outbreeding: Theoretical and Empirical Perspectives*. University of Chicago Press, Chicago, IL. 1993.

Toft C. A., Aeschlimann A. y Bolis L. (Eds.) *Parasite-Host associations: Coexistence or Conflict?* Oxford University Press.1991.

Zuur, A.F., Ieno E.N., Walker N.J., Saveliev A.A. y Smith G.M. Mixed *Effects Models and Extensions in Ecology with R. Springer* Science+Business Media, Nueva York, Estados Unidos, 2009; 35-70pp.