

Evaluación de factores condicionantes de varroosis en el Centro genético de abejas reinas**Batalla de Peralejo (Original)****Evaluation of varroosis conditioning factors in the Genetic Center of queen bees Batalla de****Peralejo (Original)**

Osmaida Estrada Cutiño. Doctora en Medicina Veterinaria. Doctora en Ciencias Veterinarias.

Profesor Titular. Universidad de Granma. Bayamo. Granma. Cuba. oestradac@udg.co.cu 

Idalmis Almenares Soto. Doctora en Medicina Veterinaria. MINAG. Bayamo. Granma. Cuba.

ialmenares@nauta.cu 

Yosvanis Álvarez Báez. Doctor en Medicina Veterinaria. Profesor Auxiliar. Universidad de

Granma. Bayamo. Granma. Cuba. yalarezb@udg.co.cu 

Hanys Ibet Arguello Leyet. Estudiante del 5to año de la Carrera de Medicina Veterinaria.

Universidad de Granma. Bayamo. Granma. Cuba. yhoanargueyoleyet@gmail.com 

Recibido: 08-08-2023/Aceptado: 26-09-2023

Resumen

La varroosis es la principal enfermedad de la abeja *Apis mellifera*. Con el objetivo de evaluar su prevalencia y los factores que la condicionan en el Centro Genético de abejas reinas Batalla de Peralejo, se analizaron los resultados de laboratorio realizados desde el año 2019 hasta 2022 en relación con la incidencia de varroosis en el Departamento de Sanidad Animal de la Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura en Granma. Se aplicaron, además, los modelos de predicción ARIMA para identificar riesgo de incremento de la infestación de la enfermedad para los años 2023 y 2024, y su afectación a los indicadores productivos de la entidad, así como para el análisis estadístico de los resultados. Se encontró que la prevalencia de la enfermedad se

comportó de 3.2 hasta un 6.8% para el periodo evaluado, con picos coincidentes en los meses del periodo poco lluvioso e infestación durante todo el año por el ácaro *Varroa destructor*. Los modelos de predicción ARIMA señalaron riesgo de aumentar la infestación para los años 2023 y 2024, afectando los indicadores productivos de la unidad. Los factores que tienen mayor incidencia en la presentación de la varroosis son el incremento de la disponibilidad de crías de abejas obreras y zánganos, y las condiciones meteorológicas.

Palabras clave: *Apis mellifera*; abejas reinas; evaluación de factores condicionantes; varroosis

Abstract

Varroosis is the main disease of *Apis mellifera* bees. With the objective of evaluating its prevalence and the factors that condition it in the Genetic Center of queen bees Batalla de Peralejo, laboratory results from 2019 to 2022 were analyzed in relation to the incidence of varroosis in the Department of Animal Health of the Provincial Delegation of the Ministry of Agriculture in Granma. ARIMA prediction models were also applied to identify the risk of increase of the disease infestation for the years 2023 and 2024, and its affectation to the productive indicators of the entity, as well as for the statistical analysis of the results. It was found that the prevalence of the disease ranged from 3.2 to 6.8% for the period evaluated, with peaks coinciding in the months of the low rainfall period and year-round infestation by the *Varroa destructor* mite. The ARIMA prediction models indicated a risk of increased infestation for the years 2023 and 2024, affecting the unit's productive indicators. The factors that have the greatest impact on the occurrence of varroosis are the increase in the availability of worker bee brood and drones, and meteorological conditions.

Keywords: *Apis mellifera*; queen bees; evaluation of conditioning factors; varroosis

Introducción

La abeja melífera (*Apis mellifera* L.) como insecto polinizador desempeña una función esencial en los ecosistemas. Aproximadamente 90% de las plantas silvestres y un tercio de las alimenticias que consume el hombre dependen de su polinización. Se ha calculado que el valor económico de la labor de polinización de las abejas, solo para la agricultura, podría estar en torno a los 500 mil millones de USD anuales en todo el mundo.

"Esta actividad representa una fuente importante de alimento y medicamentos naturales para el hombre, sin subestimar el valor comercial que alcanzan la miel, la cera, el polen, el propóleo y la jalea real" (MITECO, 2019, citado por Ocaña et al., 2021, p.1). Sin embargo, esta especie se ha visto amenazada por invasiones biológicas que son una amenaza común para la agricultura moderna, y la apicultura no es excepción pues ha sufrido varios de estos acontecimientos en su historia reciente.

El ectoparásito *Varroa destructor* fue el primero en ser reportado en el sudeste asiático en 1949 y se propagó rápidamente por toda Europa, América del Norte, Sudamérica, África y Asia y el pacífico para 1970 (Nazzi y Conte, 2016); este es considerado la peor plaga de la abeja *Apis mellifera*.

Es conocido que este ácaro afecta la abeja en todos sus estadios y es un factor que predispone para que se desarrollen otras infecciones secundarias, ya que perfora y succiona la hemolinfa de las crías y las abejas adultas, debilitándolas y propagando enfermedades infecciosas en la colmena y los apiarios y, al no ser tratadas, abandonan el panal y mueren, provocando un descenso en la polinización, disminución en la producción de miel, polen y otros productos apícolas (Díaz et al., 2019).

El daño que la varroosis causa depende del grado de infestación de las colonias afectadas. Informes científicos estiman que el efecto negativo sobre la productividad comienza cuando la población de ácaros alcanza 10% de las abejas adultas en una colonia; en este sentido, cuando la infestación llega a ser de 30 a 40%, normalmente termina con esta (De Jong, 1997; Espinosa y Guzmán, 2007 citados por Díaz et al., 2019, p.2).

En Cuba, desde el reporte de ácaro *V. destructor* en 1996, la varroosis tuvo un comportamiento en extremo agresivo (Martínez, 2007), con una elevada mortalidad y serias afectaciones de las sobrevivientes en las provincias de Mayabeque, Artemisa, La Habana y Matanzas (Bande et al., 2009). En el período 1995-1996 las producciones de miel en La Habana y Matanzas se redujeron drásticamente. Sin embargo, en Granma el ácaro *Varroa*, detectado a finales del 1999, no produjo gran impacto y agresividad, como se observó en las provincias occidentales y centrales del país.

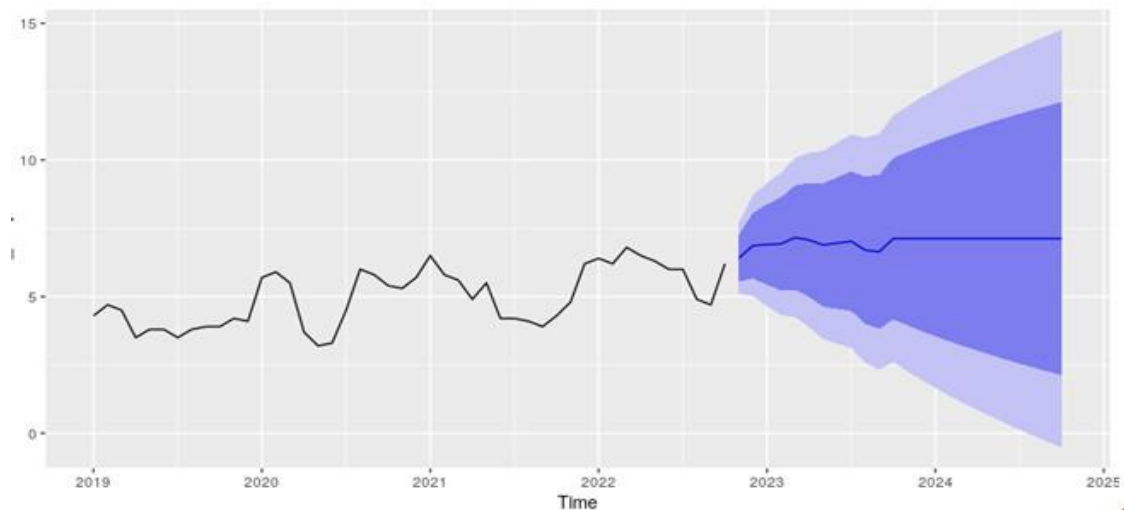
El objetivo del artículo es evaluar la prevalencia de la varroosis en el Centro genético de abejas reinas Batalla de Peralejo, municipio Bayamo, provincia Granma.

Materiales y métodos

Se analizaron los resultados de laboratorio realizados trimestralmente en el periodo de 2019 hasta 2022 en relación con la incidencia de varroosis en *Apis mellifera* en el Centro genético de abejas reinas Batalla de Peralejo, en el departamento de Sanidad Animal de la Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura (MINAG) en Granma.

Se aplicaron, además, los modelos de predicción ARIMA para identificar riesgo de incremento de la infestación de la enfermedad para los años 2023 y 2024, y su afectación a los indicadores productivos de la entidad, así como para el análisis estadístico de los resultados.

Figura 2. Predicción del comportamiento de la varroosis en el Centro genético de abejas reinas Batalla de Peralejo



Fuente: Elaboración Propia.

Varios son los factores que pueden influir en la tasa de infestación de varroosis en *Apis mellifera*, entre ellos: el manejo, susceptibilidad de las especies, la ubicación regional, que incluyen no solo las condiciones de temperatura y humedad, sino también el uso de la tierra, la carga de pesticidas o la disponibilidad de recursos (Giacobino et al., 2014 y Beaurepaire et al., 2015, citados por Masaquiza et al., 2019, p.6).

Estudios realizados por Coelho et al.(2015) corroboran que la abeja melífera europea es dos veces más atrayente para *V. destructor* que la abeja africanizada; sin embargo, esta última es más resistente a ciertas enfermedades debido a factores como el comportamiento higiénico según Nganso et al. (2017), el cual es cuatro veces mayor que en las europeas (Masaquiza et al., 2019).

Los híbridos africanizados son más eficientes en el acicalamiento de ácaros, así como una menor susceptibilidad a la invasión (Medina et al., 2014), menor atracción de la cría hacia el ácaro, el número de ácaros hembras infértiles en las celdas de obreras, y el tiempo de operculado de las celdillas de obreras (Bahreini y Currie, 2015), citados por Masaquiza et al. (2019, p. 6).

Por su parte Vandame (2000), reporta que la *Varroa* madre se reproduce exclusivamente en una celda de cría, generalmente después de un período forético; sin embargo, la entrada debe ocurrir a una edad de cría precisa y constituye un punto crítico en la vida del ectoparásito. Entrar demasiado temprano significa un riesgo importante de ser detectada y retirada por las abejas antes de que ocurra la operculación de la cría. La entrada tardía no le es posible, ya que la cría es operculada, es decir, herméticamente cerrada o bloqueada a toda entrada o salida.

Así mismo, los ácaros madres infestan las crías de obreras cuando las larvas pesan más de 100 mg, es decir, 15 horas antes de la operculación. En cambio, la cría de zánganos es infestada cuando las larvas pesan más de 200 mg, o sea, 45 horas antes del sellado. Estas edades larvales corresponden a larvas llegadas al quinto estadio de desarrollo larval (L₅) (Vandame, 2000). Después de haberse sumergido en el alimento destinado a la larva de abeja, el ácaro queda inmóvil hasta que inicia la fase de pupa, y solo entonces empieza a poner.

Se coincide con otros investigadores (Mondet et al., 2014), al referir que el ciclo de vida del ácaro está estrechamente ajustado y altamente dependiente de la abeja, *Varroa destructor* presenta aspectos morfológicos que demuestran su alta adaptación al parasitismo: su forma esférica aplanada; la situación de las extremidades en la mitad anterior para una mejor sujeción en su hospedador.

Así mismo, Dietemann et al. (2013) plantean que la maduración de los espermatozoides ocurre en las espermatecas del aparato reproductor femenino; en los órganos sensoriales, algunos extractos químicos de la cutícula de las larvas y de su alimento, estimulan la ovoposición y atracción de los ácaros.

En estudios realizados por Vandame (2000), se evidencia que esta atractividad química de la cría parece ser el factor esencial que provoca la infestación, y se inclina hacia la posibilidad

de que los ésteres de ácidos grasos (como el palmitato de metilo), emitidos naturalmente por las larvas de abejas con el fin de provocar el sellado de las celdas por las nodrizas, sean los promotores de dicha atracción, dándole solidez a la hipótesis de que las *varroas foréticas* se guían por las feromonas emitidas por la larva; sin embargo, no se descarta el papel que pueden desempeñar otros factores mecánicos como el tamaño de las celdas, así como su prominencia o la distancia entre la larva y el borde de estas. Estos elementos podrían explicar en parte la infestación más elevada de la cría de zánganos.

Así mismo, consideran que la larva de las abejas es atacada hacia el quinto día de su evolución antes que las celdas sean operculadas. La hembra del ectoparásito pone de 2 a 5 huevos a intervalos variables. Luego de 24 horas salen de ellas larvas hexápodas que mudan a las 48 horas, transformándose en protoninfas, las cuales ingieren la hemolinfa de la larva huésped.

Dentro de las 48 horas siguientes mudan a deutoninfas, 72 horas después se transforman en imagos y posteriormente, en adultos. El ciclo para la hembra se completa entre 6 y 8 días y entre 5 y 6 para el macho.

De igual manera, el apareamiento ocurre en el interior de la celda entre ácaros nacidos de la misma postura. Esto se facilita por dos hechos: según Cepero (2016), el parásito puede controlar la determinación del sexo de la descendencia, asegurando que el primer o segundo huevo origine un macho y el ciclo vital del macho es más corto, de modo que cuando las hembras alcanzan el estado adulto, ellos ya están preparados para su inseminación.

Los machos tienen una corta vida, dado que su aparato bucal está especializado en la transferencia de espermios, razón por la que les es difícil alimentarse. Casi siempre mueren en el interior de las celdas antes del nacimiento de la abeja.

"El ácaro emplea las señales químicas de su hospedero para promover su reproducción dentro de una colonia y su transmisión entre colmenas de abejas, utiliza los HC del hospedador para encontrar el estadio larvario más adecuado para infestar" (Pernal et al., 2005, citados por Masaquiza et al., 2019, pp.3-4).

"El sistema altamente adaptativo es la estrategia que permite al ácaro optimizar su búsqueda para encontrar la larva más indicada, para infestar y seleccionar el portador adecuado durante su fase forética" (Xie et al. 2016, citados por Masaquiza et al., 2019, p.4).

Por otra parte, este parásito también muestra un mimetismo químico, respecto al perfil químico del hospedero con los HC del parásito, que parecen ser cualitativamente similares a los de su hospedero, según expresa Le Conte et al. (2015).

La reproducción del ácaro solo se puede producir en el interior de la celda de cría, por ello los machos comienzan a aparearse tan pronto como se desarrolle la primera hembra (Cepero, 2016). Por lo tanto, la duración de la etapa posterior al operculado de las celdas de crías, y la mortalidad de la descendencia de los ácaros en estas celdas son factores que pueden influir en el éxito reproductivo (Ardestani, 2015).

Los ácaros se consideran no reproductivos cuando mueren en la celda sin reproducirse, no producen descendencia, producen solo descendencia masculina, o producen descendencia que no alcanza la madurez antes de que la pupa de abeja en desarrollo nazca como adulto (Harbo y Harris, 1999), citados por Masaquiza et al. (2019, p.5).

El cambio climático ha repercutido enormemente en el incremento de las temperaturas y se relaciona con las sequías que ocurren en vastas zonas a nivel mundial, estas pueden conducir a la degradación del suelo y, por ende, a una menor disponibilidad de agua y vegetales, lo cual consecuentemente propicia una menor productividad agroalimentaria, con escasez de alimentos,

generando a la vez un incremento en el precio de estos en un círculo vicioso y de afectación para los consumidores (Food and Agriculture Organization (FAO), 2013).

Por su parte, Vaziritabar et al. (2016) indicaron que las condiciones ambientales desempeñan un papel en el desarrollo de la población de ácaros de *Varroa*. No obstante, es más probable que esto solo se observe a través del efecto indirecto de factores ambientales que regulan las cantidades de cría de abejas o la actividad de ciertos comportamientos de defensa del anfitrión. Se informa en algunos países que las infestaciones de ácaros crecen de una manera más lenta, como en el caso de las abejas de Sudáfrica en donde hay ausencia del uso de acaricidas (Seeley y Smith, 2015; Peck et al., 2016), citados por Masaquiza et al. (2019, p.6).

Se coincide con Le Conte et al. (1990), al considerar que las condiciones meteorológicas tienen un efecto sobre la presentación de la varroosis, la temperatura óptima para el desarrollo de las varroas está entre 32,5 y 33,4 °C, rango que se corresponde con la temperatura de cría de *A. mellifera* L.

Desde el inicio de la primavera y durante el verano la presencia de cría es creciente por lo que el parásito se reproducirá sin interrupción y de forma exponencial. Al final del verano y comienzo del otoño (agosto y septiembre) la presencia de este agente etiológico puede llegar a ser muy elevada, especialmente en las colonias más vigorosas. Este periodo es crítico ya que la colonia puede llegar a colapsar cuando la población de abejas adultas y crías comience a disminuir, ya que se incrementa la relación de número de ácaros por abeja y cría. En este momento, si los umbrales de infestación son elevados y no se aplica un tratamiento inmediato que disminuya drásticamente la carga parasitaria, podría originarse un daño severo sobre las abejas invernantes que nacerán dañadas y muy

debilitadas (...) En verano, durante los meses de julio y agosto pueden darse paradas de la puesta de cría de abejas de forma natural, debido a las elevadas temperaturas y escasez de néctar, limitando así el crecimiento del ácaro, constituyendo un buen momento para aplicar los tratamientos, ya que la mayoría de las varroas serán foréticas (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019, pp. 23-24).

"La flora melífera o apícola es el conjunto de especies vegetales que producen o segregan elementos que las abejas recolectan para su alimentación, principalmente néctar y polen" (Velandia et al., 2012, citados por Briceño, 2018, p.3).

La flora apícola, de acuerdo con su aporte a la producción de las abejas, puede clasificarse en plantas de cosecha y plantas de sostenimiento. Para este caso hablaremos de plantas de cosecha y su estacionalidad en la producción, como aquellas que por sus características aportan los recursos necesarios para obtener cosechas de miel (por ejemplo, abundancia en la zona, floraciones abundantes, altas frecuencias de visita por parte de las abejas) y de especies de sostenimiento, aquellas que ofertan recursos poco abundantes, pero suficientes para el mantenimiento de la colmena durante el resto del año (Velandia et al. 2012, p.12).

Los estudios sobre flora melífera en Cuba, mencionan 427 especies que se agrupan en 363 géneros y 103 familias. Pero de este enorme grupo solo unas pocas son verdaderamente plantas de cosecha, el resto está constituido por plantas de sostenimiento para las colmenas en los períodos entre cosechas (Miranda, 2022, p.2).

Diversas causas afectan los rendimientos en la producción apícola y en la floración de las plantas melíferas, dentro de estas se encuentran las condiciones climatológicas desfavorables así como su inestabilidad, la duración del período poco lluvioso,

comúnmente conocido en Cuba como periodo de sequía que comienza en el mes de noviembre y culmina en abril, así como las lluvias fuera de época lo que produce un desequilibrio natural y biológico entre las abejas y el medio ambiente (Miranda, 2022, p.12).

Los apicultores observan desfases en los calendarios de floración, con depresión en las reservas de miel y polen, resultado del cambio climático que, entre sus consecuencias, ha hecho que no llueva de forma regular en otoño e invierno (Redagrícola, 2019).

Conclusiones

1. La prevalencia de la enfermedad en el período evaluado osciló entre 3.2 a 6.8%.
2. Los factores que tienen mayor incidencia en la presentación de la varroosis son el incremento de la disponibilidad de crías de abejas obreras y zánganos y las condiciones meteorológicas.

Referencias bibliográficas

- Bande, J.M., Delgado, C. & Valle, Y. (2009). *Estudio del impacto de los huracanes, como riesgo natura para la apicultura cubana (1952-2008)*. <https://docplayer.es/70569521-Estudio-del-impacto-de-los-huracanes-como-riesgo-natural-para-la-apicultura-cubana.html>
- Briceño, C. I. (2018). *Identificación de flora melífera con potencial ornamental y medicinal en Yucatán*. [Tesis de maestría, Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco].
- <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/598/1/Cinthia%20Isabel%20Brice%C3%B1o%20Santiago.pdf>

- Cepero, A. (2016). *Monitorización de los principales patógenos de las abejas para la detección de alertas y riesgos sanitarios*. [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, España]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=149274>
- Coelho, F., Santos, J. & Bliman, P. (2015). Behavioral modulation of the coexistence between *Apis mellifera* and *Varroa destructor*: A defense against colony collapse? *Peer J. PrePrints*, 17(3), 39-44. <https://www.semanticscholar.org/paper/Behavioral-modulation-of-the-coexistence-between-A-Coelho-Santos/7144217f76d8039e4abadb5162cdfcc754d1d2b2>
- Díaz, B., Moyón, J. & Baquero, M. F. (2019). Evaluación de tres alternativas para el control de varroasis (*Varroa destructor*) en apiarios ecuatorianos. *Ciencia y Agricultura*, 16(1), 63-78. <https://www.redalyc.org/journal/5600/560059292005/html/>
- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, B. & Delaplane, K. S. (2013). Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-54. https://www.researchgate.net/publication/235444236_Standard_methods_for_varroa_research
- Food and Agriculture Organization. FAO. (2013). *Climate-smart agricultura. Sourcebook*. www.mapa.gob.es/temas/guiavarroafinalapicultor_tcm30-421798
- Le Conte, Y., Arnold, G. & Desenfant, P. (1990). Influence of Brood Temperature and Hygrometry Variation on the Development of the Honey Bee Ectoparasite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata:Varroidae). *Enviromental Entomology*, 19(6):1780-1785. <https://www.researchgate.net/profile/Yves-Le-Conte/publication/233710978>
- Le Conte, Y., Huang, Z., Roux, M., Zeng, Z., Christidés, J. & Bagnères, A. (2015). *Varroa destructor* changes its cuticular hydrocarbons to mimic new hosts. *Biology Letters*, 11(2),

1-10.

https://www.researchgate.net/publication/277780559_Varroa_destructor_changes_its_cuticular_hydrocarbons_to_mimic_new_hosts

Madrigal, M., Lazo, L., Fimia, R., Castro, L., Alarcón, P. M., De la Fe, P. Y., Iannaccone, J. & Argota, J. (2021). Efecto individual y combinado del panal trampa, cambio de reina y buenas prácticas de manejo sobre la varroosis en colmenas de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (*Hymenoptera apidae*) en Villa Clara, Cuba. *Biotempo*, 18(1), 37-49.

<https://revistas.urp.edu.pe/index.php/Biotempo/article/view/3782/4750>

Martínez, J. (2007). Antecedentes de la varroosis en Cuba. Taller de Control Alternativo de *Varroa*. 2^{do} Congreso Cubano de Apicultura y 1^{er} Encuentro Latinoamericano de Apicultores, del 16 al 19 de enero de 2007. La Habana, Cuba.

Masaquiza, D. A., Curbelo, L. M., Díaz, B. L. & Arenal, A. Varroasis y mecanismos de defensa de la abeja melífera (*Apis mellifera*). *Revista de Producción Animal*, 31 (3).

<http://scielo.sld.cu/pdf/rpa/v31n3/2224-7920-rpa-31-03-76.pdf>

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2019). *Guía técnica para la lucha y control de varroosis y uso responsable de medicamentos veterinarios contra Varroa*.

[www.mapa.gob.es temas guiavarroafinalapicultor_tcm30-421798](http://www.mapa.gob.es/temas/guiavarroafinalapicultor_tcm30-421798)

Miranda, M. (2022). Caracterización de la flora apícola del apiario Macuto # 1 en diferentes áreas en el municipio de Puerto Padre. *Revista Digital de Medio Ambiente Ojeando la agenda*, 75, 1-15 . <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8408075>

Mondet, F., De Miranda, J., Kretzschmar, A., Le Conte, Y. & Mercer, A. (2014). On the Front Line: Quantitative Virus Dynamics in Honeybee (*Apis mellifera* L.) Colonies along a

- New Expansion Front of the Parasite *Varroa destructor*. *PLoS Pathogens*, 10(1), 33-37.
<https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1004323>
- Nazzi, F. & Conte, Y. (2016). Ecology of *Varroa destructor* de major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Annual Review of Entomology*, 61:417.
<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-ento-010715-023731>
- Nganso, B. T., Fombong, A. T., Yusuf, A. A., Pirk, C. W., Stuhl, C. & Torto, B. (2017). Hygienic and grooming behaviors in African and European honeybees-New damage categories in *Varroa destructor*. *PLoS One*, 12(1), 45-53.
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0179329>
- Ocaña, L. Pérez, A., Fernández, T. & Demedio, J. (2021). Biometric parameters of newborn drones of honeybee (*Apis mellifera* L.) and factors that affect them, in hives from Mayabeque, Cuba. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 55 (2), 1-13.
<http://scielo.sld.cu/pdf/cjas/v55n2/2079-3480-cjas-55-02-e05.pdf>
- Redagráfica. (2019). *Estrategias para reducir el impacto de la sequía sobre las abejas melíferas*. <https://www.redagricola.com/cl/estrategias-para-reducir-el-impacto-de-la-sequia-sobre-las-abejas-meliferas/>.
- Vandame, R. (2000). *Control alternativo de Varroa en apicultura*. El Colegio de la Frontera Sur. <https://docplayer.es/26461883-Control-alternativo-de-varroa-en-apicultura-remy-vandame-noviembre-del-2000-edicion-2-2.html>
- Velandia, M., Restrepo, S., Cubillos, P., Aponte, A. & Silva, L. M. (2012). *Catalogo fotográfico de especies de flora apícola en los departamentos de Cauca, Huila y Bolivar*. Instituto Humboldt.

<http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/31379/199.pdf?sequence=1&isAllowed=y>