

Evaluación de dos frecuencias de colecta de apitoxina extraída de colmenas de *Apis mellifera* L. durante la época estival en la Región de La Araucanía

*Evaluation of two frequency of collection of apitoxin extracted of hives of *Apis mellifera* L. time during the summertime in the Region of the Araucania*

Ximena Araneda Durán¹, Yerko Leichtle Cifuentes¹, Daniza Morales Ulloa¹

RESUMEN

El experimento se llevó a cabo desde el 7 de enero al 9 de marzo del 2006, en el Apiario del Centro Experimental Pillanlelún de la Universidad Católica de Temuco, ubicado a 15 km al norte de Temuco, Región de La Araucanía, Chile. En este lugar se evaluó la producción de apitoxina extraída de colmenas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Para la realización del experimento se contó con extractores de apitoxina del tipo canadiense, los que funcionan a través de electroestimulación. Se utilizaron tres colmenas para cada tratamiento y se evaluaron dos frecuencias de extracción diferentes, cada 20 días (T1) y cada 30 días (T2). Las variables analizadas fueron: efecto en el peso de las colonias, mortalidad de abejas y cantidad de apitoxina extraída. No se encontraron diferencias significativas entre las variables estudiadas (peso colonias $p = 0,127$; mortalidad de abejas $p = 0,827$; y cantidad de apitoxina $p = 0,507$), por lo cual se concluye que es recomendable realizar extracciones cada 30 días en comparación a las extracciones cada 20 días, pues es preferible realizar esta operación más distanciada en el tiempo a fin de disminuir costos de operación y molestias a las abejas.

Palabras clave: Veneno, extractores.

ABSTRACT

*The experiment was carried out from 07 January to 09 March 2006 in the Apiary of the Pillanlelún Experimental Centre of the Catholic University of Temuco, located 15 km north of Temuco, Araucania Region, Chile. Here the production of apitoxin extracted from the hives of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) was evaluated. The experiment was carried out using apitoxin extractors of a Canadian type which function by electro-stimulation. Three hives were used for each treatment and different extraction frequencies were evaluated: every 20 days (T1) and every 30 days (T2). The variables analysed were: effect on the weight of the colonies, bee mortality and quantity of apitoxin extracted. No significant differences were found between the variables studied (weight colonies $p = 0.127$, bee mortality $p = 0.827$, and amount of bee venom $p = 0.507$) and it was therefore concluded that it is recommended to carry out extractions every 30 days rather than every 20 days, since it is preferable to do this operation at longer time intervals in order to reduce operation costs and disturbance of the bees.*

Key words: Venom, extractors.

Introducción

Las abejas poseen un importante valor económico que deriva de la explotación apícola, sin embargo, desde el punto de vista médico, los himenópteros son el grupo de insectos venenosos de mayor importancia a escala mundial (Valderrama, 2003). El veneno de las abejas o apitoxina es secretada por las glándulas del veneno (Bridges y Owen, 2005; Vit, 2005) y es reconocida como una sustancia tóxica para el hombre desde los tiempos prehistóricos,

no obstante, el conocimiento de su composición y mecanismo de acción data de mediados del siglo XX (Haberman, 1972).

La cantidad de veneno de *Apis mellifera* es de aproximadamente 94 microgramos (King y Valentine, 1987), y entre los 15 a 20 días después de nacida su saco venenífero contiene 0,3 mg de veneno, lo que corresponde a 0,1 mg de veneno seco (Potschinkova, 2004), disminuyendo éste cuando la abeja envejece. Además, el contenido de veneno y el porcentaje de compuestos varían entre individuos

¹ Universidad Católica de Temuco, Campus Norte, Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Casilla 15-D. E-mail: xaraneda@utc.cl

de diferentes colonias (Valderrama, 2003). Entre los himenópteros capaces de producir reacciones alérgicas a la picadura se encuentran insectos de la familia Apidae (varias especies de abejas), Vespidae (avispa, avispones y abejorros), y dentro de la familia Formicidae el género *Solenopsis* (hormiga de fuego) (Rodríguez-Acosta y Reyes-Lugo, 2002; Nevot y Guilarte, 2003).

Entre los compuestos identificados en el veneno o apitoxina de las abejas se encuentran componentes biológicamente activos, tales como péptidos simples como la apamina, polipéptidos melitina y enzimas como la fosfolipasa A2 y la hialuronidasa, histamina y la dopamina (Valderrama, 2003; Silva, 2005; Ciszowski y Mietka-Ciszowska, 2007; Valencia *et al.*, 2007), de los cuales la fosfolipasa A2, melitina y apamina son los compuestos causantes de los accidentes fatales en el ser humano y mamíferos (Peña *et al.*, 2006), así como sustancias no alergénicas, tales como: toxinas, aminas vasoactivas, acetilcolina y cininas (Guspí *et al.*, 2005).

Por un lado, la apitoxina causa alergias, pero al mismo tiempo es un antibiótico muy activo, tiene propiedades bactericidas, hemolíticas, anticoagulantes y tónicas (Haig, 2007), y está constituida por tres sustancias: inflamatoria, convulsionante y paralizadora (Patiño y Matallana, 2003). Además, posee propiedades curativas y profilácticas, ya que alivia diversas enfermedades actuando sobre todo el organismo y aumentando la inmunidad (Vit, 2005), siendo utilizada con finalidades terapéuticas (Potschinkova, 2004), donde la inmunoterapia tiene su mayor efectividad, la cual está indicada solamente en reacciones generalizadas (urticaria, angioedema, compromiso respiratorio o cardiovascular) (Bonifazi *et al.*, 2005), siendo eficaz en la protección de los pacientes (Lang y Hawranek, 2006).

Según Krell (1996), la dosis letal de veneno de *Apis mellifera* para una persona adulta es de 2,8 mg por kg de peso. Esto significa que una persona que pesa 60 kg morirá si recibe 600 picaduras de abeja, cada una suministrando 0,3 mg de veneno aproximadamente. Mientras que Fitzgerald y Flood (2006) indican que la estimación de la dosis letal es de aproximadamente 20 picaduras por kg en la mayoría de los mamíferos.

Entre los métodos de extracción de apitoxina se encuentra el hacer picar a la abeja en una membrana para que el aguijón se desprenda y el veneno se vierta en un recipiente para luego recolectarlo. Otra forma es matando las abejas para extraer la

apitoxina de la masa de sus cuerpos (Potschinkova, 2004), o mediante la extracción quirúrgica de la glándula de veneno (Krell, 1996).

También es posible utilizar un equipo automatizado que funciona con impulsos eléctricos y permite obtener veneno libre de impurezas, sin sacrificar abejas por el electroshock aplicado (Casanova, 2000; Obispo, 2002). Dussart y Bartholomé (2007) señalan que este método de extracción funciona con una parrilla vidriada conectada a una fuente eléctrica encargada de producir una secuencia de estímulos muy precisos, donde las abejas se excitan y pican el vidrio, depositando una gota de veneno (Rybak *et al.*, 1995; Simics, 2005), el cual se deshidrata y se recoge en forma de cristales por raspado con una espátula (Simics, 1996; Vit, 2006).

Este último método es el utilizado como el procedimiento estándar de extracción en el mundo actualmente, por esta razón el objetivo de esta investigación es evaluar diferentes frecuencias de extracción a fin de determinar diferencias entre cantidades de apitoxina recolectadas, mortalidad de abejas y peso de las colonias.

Materiales y Métodos

El experimento se realizó desde el 7 de enero al 9 de marzo del 2006, en el Apiario del Centro Experimental Pillanlelbún de la Universidad Católica de Temuco, ubicado a 15 km al norte de Temuco, en las coordenadas UTM Huso 18 713598 N y 5713422 E según sistema de posicionamiento global GPS, Región de La Araucanía, Chile. Para el experimento se utilizaron tres colonias de *A. mellifera* en cámara de cría por cada tratamiento y se evaluaron dos frecuencias de extracción: cada 20 días (T1) y cada 30 días (T2). Las variables analizadas fueron: efecto en el peso de la colonia de abejas, mortalidad de abejas y cantidad de apitoxina extraída.

Para la extracción de la apitoxina se utilizaron extractores de piquera, los que funcionan a través de electroestimulación regulando la duración del pulso eléctrico a través de un potenciómetro, el cual fue de tres segundos de duración con intervalos de seis segundos entre cada golpe, entregando pequeñas descargas eléctricas de 11,5 a 13,5 voltios. Esta práctica se llevó a cabo por un periodo de 30 minutos en días soleados y secos. Las mediciones se realizaron al mediodía por ser este según Díaz *et al.* (1990), la mejor hora para recolectar veneno. Antes

de comenzar la extracción se procedió a pesar los cajones y determinar el peso de las colonias a tratar, lo que se realizó con una balanza mecánica. Una vez terminado el experimento se volvieron a pesar.

Los vidrios de los extractores que contenían veneno fueron almacenados a la sombra (in situ) para que la apitoxina se secase a temperatura ambiente y no perdiera sus propiedades. La recolección de la apitoxina desde los vidrios se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Escuela de Agronomía de la Universidad Católica de Temuco, bajo normas de seguridad. Una vez concluido el proceso de extracción de apitoxina por colmena, se procedió al conteo de abejas muertas, las cuales fueron tomadas desde el extractor y almacenadas en bolsas plásticas.

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza por medio del test no paramétrico de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$), utilizando el programa estadístico SPSS versión 12.0

Resultados y Discusión

Efecto de la extracción de apitoxina sobre el peso de las colonias

Para poder determinar el efecto de la extracción de apitoxina en el peso de las colonias se pesaron las colmenas al inicio y al final del experimento, con la finalidad de poder comparar si existía una diferencia estadística entre éstas. La prueba de Kruskal-Wallis indicó que no existió diferencia significativa entre el peso de los tratamientos ($p = 0,127$) (Tabla 1).

Krell (1996) señala que extracciones realizadas en periodos de tiempo muy cortos (cada tres días), menores aun a los del presente experimento, mantuvieron a las abejas perturbadas (agresivas) durante estos periodos y redujeron en un 14% la producción de miel de las colmenas. Similar comportamiento reportaron Abreu *et al.* (2000), quienes en un ensayo realizado para analizar el contenido de proteína en veneno de *A. mellifera* señalaron que al extraer éste las abejas se vuelven más agresivas a los choques eléctricos, irritándolas durante varios días (Krell, 1996; Silva, 2005).

También Bogdanov (2000) señala que extracciones realizadas en verano, tres veces en el mes (cada 10 días) y con una duración de tres horas cada una, resultaron en una disminución de entre un 10% a un 15% en la producción de miel,

recomendando bajar los periodos de extracción para evitar esta merma. Lo señalado anteriormente muestra la importancia de los periodos de extracción de apitoxina ya que si éstos no son los adecuados producen efectos significativos en la producción de miel y por ende en el peso total de las colmenas. Por otra parte, Potschinkova (2004) señala que extracciones realizadas dos veces al mes durante seis horas cada una, y con reposos después de la primera y tercera hora de extracción, dieron como resultado un aumento en la postura de la reina, lo que contribuyó al aumento de la colonia y de su productividad. El mismo autor señala que aunque este fenómeno no se ha podido esclarecer todavía se presume que las abejas transmiten la excitación de este proceso a la reina estimulándola a acelerar la postura de huevos en la colmena.

En esta investigación se observó un aumento en el peso de las colmenas desde el inicio hasta el término de éste a pesar de realizar el ensayo en una época con baja cantidad de néctar y con un verano seco. Similar a lo reportado por Skubida *et al.* (1995), quienes señalan que la colecta de veneno no tiene efectos adverso sobre la fuerza de la colonia, desarrollo de la cría y la productividad; sin embargo, la técnica de recolección utilizada puede afectar negativamente el rendimiento de invernada de las colonias. Tal como lo señalan Gholamian *et al.* (2006), quienes mencionan que el efecto de colectar veneno sobre el comportamiento y características de la producción de miel en colonias de abejas depende del tipo de aparato, el método de recogida y probablemente a otros factores.

Por el contrario, Zhou *et al.* (2003) mencionan que el uso de choques eléctricos para la colecta de veneno no es beneficiosa para la población de abejas y la producción, ya que la producción de miel en su ensayo disminuyó significativamente ($p \leq 0,05$) (45,64 a 49,90%); mientras que la producción de jalea real y la tasa de aceptación de larvas se redujo muy significativamente ($p \leq 0,01$), 46,17% y 31,05%, respectivamente, cuando el veneno fue recogido continuamente, es decir, una vez por tres días y hasta 10 veces.

Efecto de la extracción de apitoxina sobre la mortalidad de abejas de las colonias

No existen diferencias significativas entre las mortalidades producidas por las extracciones cada 20 días y cada 30 días ($p = 0,827$). Para el T1, la

media fue de 16,25 abejas muertas y para el T2 la media fue de 19,67 abejas (Tabla 1).

Según Simics (2005), los extractores de apitoxina no deberían matar a más de 5 a 15 abejas por extracción para un tiempo de colecta de veneno de entre 30 a 40 minutos. Por el contrario, Zhou *et al.* (2003), cuando colectaron veneno continuamente durante 11 días no obtuvieron diferencias aparentes en la población de abejas; sin embargo, la población se redujo muy significativamente ($p \leq 0,01$) en un 12,87% y 28,81% después de 23 días y 35 días respectivamente.

En este sentido, los estímulos eléctricos pueden afectar el desarrollo de las abejas, tal como lo reportó Omer (1994), quien señaló que el valor máximo de veneno fue extraído a 50 Hz y 24 V, pero con un nocivo efecto en la actividad de forrajeo de las abejas, provocando la muerte de éstas después del periodo de extracción. Potschinkova (2004) indica que el voltaje no debe pasar de los 20 voltios, para no arriesgar la vida de las abejas y no ensuciar la apitoxina, siendo el voltaje más adecuado entre los 12 y 18 voltios.

Evaluación de la cantidad de apitoxina extraída

La cantidad de apitoxina extraída no presentó diferencia significativa ($p = 0,507$). Para el T1, la media fue de 0,0799 g y para el T2 la media fue de 0,0581 g de apitoxina (Tabla 1). Valores muy similares a los obtenidos por Rybak y Skubida (2007), quienes en un estudio de tres años lograron colectar en promedio 0,074 g de veneno por colonia por medio de la estimulación eléctrica. Sin embargo, estos mismos autores señalan que al utilizar aparatos eléctricos junto con sonido de estimulación se obtienen valores significativamente más altos de veneno (86%) en comparación con el uso de estimulación eléctrica solamente.

En cuanto a la cantidad de apitoxina que puede ser expulsada en una picadura de abeja también se

observan variaciones dentro de las mismas especies (Biló *et al.*, 2005), y entre diferentes especies de himenópteros (Nevot y Guilarte, 2003).

Además, el contenido de veneno también varía entre temporadas (invierno y verano) y con la edad de las abejas, ya que Abreu *et al.* (2000) reportaron que durante la extracción de veneno las abejas jóvenes (siete días de edad) responden más lentamente a las descargas eléctricas, intensificando su respuesta a medida que avanza su edad, ya que éstas deben salir en busca de alimento y están más expuestas a peligros reales y responden con mayor rapidez a los estímulos del medio ambiente, por lo que producen una mayor cantidad de veneno. Además, Gauldie *et al.* (1978) señalan que la composición del veneno varía con el tiempo, la época del año, la dieta y el método de recolección.

Omer (1994) logró obtener 132 mg de veneno seco por colonia por 30 minutos, sin efectos nocivos sobre las abejas. Fakhim (1998) señala que extracciones realizadas por Fakhmizadeh en 1990, con una trampa de cajón, cuyo funcionamiento por electroestimulación es idéntico a los actuales y cuya principal diferencia es que es cerrada, dieron como resultado que extracciones de veneno realizadas en ocho colonias fuertes y utilizando dos marcos con abejas por colonia (sacadas desde los extremos de los cajones) para cada uno de los experimentos, fueron en promedio de 0,026 gramos por colonia. El tiempo de recolección duró 10 minutos con choques eléctricos de tres segundos seguidos de una pausa de siete segundos.

Respecto a la frecuencia de recolección con este método, Potschinkova (2004) señala que se debe recolectar dos veces al mes (en verano), cuando la floración está en su apogeo. Mientras que Silva (2005) señala que la actividad de recolección del veneno no debe realizarse más de cuatro o seis veces al año, con un descanso mínimo dos a tres semanas entre cada recolección.

En cuanto al método de recolección, Krell (1996) señala que el más eficaz y al parecer el menos

Tabla 1. Peso obtenido al final del experimento, número de abejas muertas y cantidad de apitoxina extraída.

Tratamientos	Peso final colonia (kg)	Mortalidad (número)	Apitoxina (mg)
T1 (20 días)	25,83 ± 1,92	16,25 ± 4,19	0,0799 ± 0,021
T2 (30 días)	21 ± 1,15	19,67 ± 2,37	0,0581 ± 0,004

No existe diferencia significativa según test de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

dañino corresponde a extracciones de 15 minutos con intervalos de tres días y repitiendo el procedimiento después de 14 días a 21 días, ya que se aumenta el volumen de apitoxina recolectada y se perturba en menor medida a las abejas. Sin embargo, el autor no señala si el aumento se debe al promedio de veneno extraído o al total recolectado.

El experimento determinó que los distintos tratamientos expuestos en esta investigación, cada 20 días y 30 días, no tuvieron diferencias significativas en las cantidades recolectadas, por lo que las extracciones cada 30 días serían las más convenientes, pues implican menores costos de operación y menores molestias para las abejas.

Conclusiones

La extracción de apitoxina mediante estimulación eléctrica, aplicada según los intervalos evaluados es una forma de colecta de veneno que no disminuye la productividad de las colonias.

Con respecto a la mortalidad de abejas, producto de la extracción de apitoxina, no se detectó diferencia significativa entre los dos tratamientos.

No se encontraron diferencias significativas en extracciones de veneno en colectas de 20 y 30 días. Se recomienda extracciones cada 30 días pues implican menores costos de operación y menores molestias para las abejas.

Literatura Citada

- Abreu, R.; Silva de Moraes, R. and Malaspina, O.
2000 Histological aspects and protein content of *Apis mellifera* L. worker venom glands: the effect of electrical shocks in summer and winter. *Journal of Venomous Animals and Toxins* 6 (1): 87-98.
- Biló, B.; Rueff, R.; Mosbech, H.; Bonifazi, F.; Oude-Elberink J.
2005 Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 60 (11): 1339-1349.
- Bogdanov, S.
2000 Bienengift. [en línea]. Apicultura: apiterapia (venenajalea real). Libros de apiterapia. Documento electrónico obtenido de internet. [Fecha de consulta: 25 junio 2006]. Disponible en: <http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/apiterapia/apiterapia.htm>.
- Bonizate, F.; Jutel, M.; Biló, B.; Birnbaum, J.; Muller, U. and the EAACI Interested Group on Insect Venom Hypersensitivity.
2005 Prevention and treatment of Hymenoptera venom allergy: guidelines for clinical practice. *Allergy* 60 (12): 1459-1470.
- Bridges, A. and Owen, M.
2005 The morphology of the honey bee (*Apis mellifera* L.) venom gland and reservoir. *Journal of Morphology* 181 (1): 69-86.
- Casanova, R.
2000 Veneno de abejas: métodos de extracción y usos. En: González, I. y Vit, P. Curso "Calidad de la Colmena para la Apiterapia". VII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. Mérida 30-31 de marzo 2000. Facultad de Farmacia, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
- Ciszowski, K. and Mietka-Ciszowska, A.
2007 Hymenoptera stings. *Przegląd Lekarski* 64 (4-5): 282-289.
- Díaz, H.; Balderrama, N. y Almeida, L.
1990 Variación diaria de la respuesta de aguijonear ante un shock eléctrico en la abeja (*Apis mellifera* L.). *Revista Facultad de Agronomía* 16: 219-230.
- Dussart, E. y Bartholomé, Y.
2007 Taller elaboración de subproductos de la miel y las colmenas. IICA. Managua, Nicaragua. 51 p.
- Fakhim, K.
1998 Innovations improved device for venom extraction. *Bee World* 79 (1): 52-56.
- Fitzgerald, K.T. and Flood, A.A.
2006 Hymenoptera stings. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 21 (4): 194-204.
- Gauldie, J.; Hanson, J.; Shipolini, R. and Vernon, C.
1978 The structures of some peptides from bee venom. *European Journal of Biochemistry* 83 (2): 405-410.
- Gholamian, E.; Ebadi, R. and Tahmasbi, G.H.
2006 The effect of venom collection on some behavioral characteristics and honey yield of honey bee (*Apis mellifera*) colonies and comparing venom collecting apparatuses made in Iran. *Pajouhesh-Va-Sazandegi* 19 (72): 44-49.
- Guspi, R.; Ferré, L.; Ranea, S. y Nevot, S.
2005 Alergia a picadura de insectos. *Pediatría Integral* IX (8): 611-619.
- Haberman, E.
1972 Bee and wasp venoms. *Science* 177: 314-322.
- Haig, N.
2007 Apicultura: un dulce negocio lleno de misterio. *Sustrai*. pp. 43-47.
- King, T.P. and valentine, M.D.
1987 Allergens of hymenopteran venoms. *Clinical Reviews in Allergy* 5 (2): 137-148.
- Krell, R.
1996 Value-added products from beekeeping. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Roma, Italia. 395 p.
- Lang, R. and hawranek, T.
2006 Hymenoptera venom immunotherapy and field stings. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology* 16 (4): 224-231.
- Nevot, S. y Guilarte, M.
2003 Hipersensibilidad a veneno de himenópteros. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría: Inmunología clínica y alergología. Nº 11, pp. 119-126.

- Obispo, T.
2002 Nuevos conceptos en la fabricación de extractos de veneno de himenópteros. *Alergología e Inmunología Clínica* 17: 215-220.
- Omer, M.
1994 New device to extract venom by electrical impulses from honeybee colonies. *Assiut Journal of Agricultural Science* 25 (1): 113-126.
- Patiño, N. y Matallana, D.
2003 ¿Una dulce intoxicación? *Revista Facultad de Medicina* 51 (2): 94-96.
- Peña, L.; Pineda, M.; Hernández, M. y Rodríguez-Acosta.
2006 Toxinas naturales: abejas y sus venenos. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* 25 (1): 6-10.
- Potschinkova, P.
2004 Apiterapia: la fuerza curativa de la miel. *Traficas Cofás, S.A. Madrid*. 153 p.
- Rybak, M.; Muszynska, J.; Skubida, P. and Marcinkowski, J.
1995 Technology for bee venom collection. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe* (Poland) 39 (2): 223-231.
- Rybak, M. and Skubida, P.
2007 Application of coupled electrical and sound stimulation for honeybee venom collection. *Journal of Apicultural Science* 51 (2): 63-66.
- Rodríguez-Acosta, A. and Reyes-Lugo, M.
2002 Severe human urticaria produced by the ant (*Odontomachus bauri*, Emery 1892) (Hymenoptera: Formicidae) venom. *International Journal of Dermatology* 41 (11): 801-803.
- Silva, D.
2005 Guía ambiental apícola. Instituto de Investigación en Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá D.C. 91 p.
- Simics, M.
1996 Bee venom-frequently asked questions. *American Bee Journal* 136 (2): 107-109.
- Simics, M.
2005 Bee venom collector devices. [en línea] Apitronic services. Bee venom therapy supplies and books. Documento electrónico obtenido de internet [fecha de consulta: 25 de junio 2006]. Disponible en <http://www.beevenom.com/collectordevices.htm#COLL>.
- Skubida, P.; Muszynska, J.; Rybak, M. and Marcinkowski, J.
1995 Bee venom collection and its effect on the general output of the apiary and wintering. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe* (Poland) 39 (2): 209-221.
- Valderrama, R.
2003 Revisión de tema. Aspectos toxicológicos y biomédicos del veneno de las abejas *Apis mellifera*. *Iatreia* 16 (3): 217-227.
- Valencia, Z.; Sánchez, O.; Sánchez, O.; Montes, M., Duarte, D. and Leon, O.
2007 Allergy and neurotoxicity induced by bee sting. Case report and literature review. *Revista Alergia México* 54 (5): 177-185.
- Vit, P.
2005 Productos de la colmena secretados por las abejas: cera de abejas, jalea real y veneno de abejas. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel* 36 (1): 35-42.
- Vit, P.
2006 ¿Es posible la apiterapia sin la apicultura? En su Iniciación a la apiterapia. Universidad de los Andes: apiba-CDCHT. Editorial Venezolana, C.A. Mérida, Venezuela. pp. 9-10.
- Zhou, B.; Zang, S.; Su, C. and Zhou, G.
2003 Effects on honeybee population, production of royal jelly and honey by collecting venom using electric shocking. *Scientia Agricultura Sinica* (China) 36 (2): 218-222.