

Determinación melisopalinológica de miel de abejas *Apis mellifera* producida con flora de clima frío, principalmente *Trifolium repens* L

Efrén Insuasty-Santacruz ^{1,2}, Javier Martínez-Benavides ^{1,2}, Henry Jurado-Gómez ^{1,2}

1 *Programa de Zootecnia, Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.*

2 *Grupo de Investigación en Fisiología, Etología Animal y Procesos Biotecnológicos aplicados a la producción animal (FISE-PROBIOTEC), Pasto, Colombia.*

efren9990@gmail.com

Recibido: 25 de Enero de 2017 y Aprobado: 9 de Marzo de 2017 y actualizado 20 de junio de 2017

DOI: 10.17151/vetzo.2017.11.1.6

RESUMEN: La melisopalinología permite caracterizar la miel de abejas de acuerdo con su origen botánico y geográfico, permitiendo identificar sus características físico-químicas. Por ello, se determinó la melisopalinología de la miel de abeja producida en un cultivo de trébol blanco (*Trifolium repens*). Se sembró un cultivo de trébol blanco y se instaló una colmena de *Apis mellifera* aledaña al cultivo. Se determinaron las variables tamaño y morfología del polen de la miel en dos épocas y el tipo de especie pecoreada. Las diferencias entre épocas se analizaron mediante la prueba de Chi cuadrado y t Student para forma y tamaño respectivamente, además de estadística descriptiva. Las principales especies taxonómicas encontradas en la miel de abejas corresponden a *solanáceas*, *brassicáceas* y *fabáceas*, clasificándose como miel poliflorar. El polen de trébol blanco no presentó el más alto valor en la miel, pero estuvo entre las principales especies pecoreadas, alcanzando un 20,9% en las muestras. Los resultados entre periodos no mostraron diferencias estadísticas. El tamaño promedio del grano de polen de trébol blanco fue de 25,7 micrómetros, siendo un valor aceptable para las abejas y la forma se caracterizó por ser esférica y prolado.

Palabras clave: *Apis mellifera*, melisopalinología, polen, *Trifolium repens*

Melisopalinological determination of honey of bees (*Apis mellifera*) produced with climate cold flora mainly *Trifolium repens* L.

ABSTRACT: The melissopalinology allows to characterize the honey of bees according to their botanical and geographical origin, to allow identifying their physico-chemical characteristics. Thus, melissopalinology of honey produced in a white clover (*Trifolium repens*) culture was determined. White clover cultivation was planted and a hive of *Apis mellifera* was installed adjacent to the crop. The variables pollen size and morphology of the honey in two seasons and the type of pecoreated species were determined. Differences between epochs were analyzed using the Chi-square test and Student-t for shape and size respectively, in addition to descriptive statistics. The main taxonomic species found in honey belong to Solanaceae, Brassicaceae and Fabaceae, being classified as polyfloral honey. White clover pollen did not present the highest

value in honey, but it was among the main pecoreated species, reaching 20.9% in the samples. The results between periods did not show statistical differences. The average size of the white clover pollen grain was 25.7 micrometers, being an acceptable value for the bees and the shape was characterized by being spherical and curved in the center and flatter in the periphery.

Key words: *Apis mellifera*, melissopalynology, pollen, *Trifolium repens*

Introducción

La melisopalinología es una disciplina que se enfoca en la identificación de polen en las muestras de miel (Herrero et al., 2002). La miel se caracteriza por tener un alto contenido de polen, producto de la recolección o pecoreo de las abejas en las diferentes especies visitadas; esta característica permite determinar el origen botánico y geográfico de la miel, además de conocer algunas características sensoriales y físico-químicas, ya que se identifica el tipo de especies utilizadas en la recolección de néctar (Von Der Ohe et al., 2004).

El polen en la miel es consecuencia de la caída de granos de polen de los estambres a la parte interior de la flor, donde se encuentra el néctar. Esta caída se debe a factores externos como el viento u otros agentes, incluida la acción de los insectos. De esta manera, el polen es libado por las abejas y se transforma en parte de la miel producida dentro de la colmena (Sawyer, 1998).

Sin embargo, el estudio del contenido de polen en la miel debe realizarse en forma adecuada, ya que los resultados obtenidos pueden ser alterados como consecuencia de la contaminación por fuentes externas a la floración visitada por la abeja, como es el polen de plantas anemófilas y la contaminación por otros pólenes al momento de extraer la miel (Barth, 2004).

Dependiendo del número de especies utilizadas en la obtención de néctar para la producción de la miel, esta se puede clasificar en miel monofloral y multifloral. La primera proviene totalmente o en un alto porcentaje de una sola especie de plantas, lo que determina que sus características organolépticas, físico-químicas, microscópicas sean similares a la planta de origen; para la segunda, el número de especies es mayor a dos, y no existe una predominancia de alguna especie (Sánchez, 2003). Esta información le permite al productor tipificar su producto según el origen botánico, de acuerdo con las especies predominantes (Piedras-Gutiérrez & Quiroz-García, 2007).

Dentro de las especies forrajeras, el trébol blanco es una especie que necesita ser polinizada por la abeja, mejorando su productividad y propagación (Calderón, 2004). Además, el trébol es un cultivo muy utilizado en la nutrición de animales herbívoros, especialmente el ganado bovino; que presenta una alternativa de fuente alimenticia para las abejas (Nates-Parra et al., 2013).

La presente investigación planteó realizar el análisis melisopalinológico de la miel de abejas producida con flora de clima frío, principalmente *Trifolium repens* L.

Materiales y Métodos

El estudio se llevó a cabo en la Granja Experimental Botana de la Universidad de Nariño, localizada en el departamento de Nariño, municipio de Pasto, corregimiento de Catambuco, vereda Botana, entre los 2800 y 3200 msnm, con una precipitación de 1150 mm, temperatura de 12,9°C, evaporación de 994,4 mm, humedad relativa del 80% y brillo solar de 1377 horas (IDEAM).

Se estableció un cultivo de *T. repens* de un área aproximada de 0,49 ha, para lo cual se tomó en cuenta la inclinación, distancia de otros cultivos y sistemas de producción. De igual manera, se seleccionaron del apiario de la granja, las colmenas que mostraron mayor actividad y que tenían una reina joven, para ser preseleccionadas y obtener de forma aleatoria la colmena a instalar en la pradera. La colmena fue colocada en una de las esquinas del lote de trébol blanco y el monitoreo se realizó cuando el cultivo se encontró en un 30% de floración.

Para determinar el estado de floración del cultivo, se procedió a realizar 12 muestreos al azar en la pradera con un marco de 0,50 x 0,50 m y en cada uno se determinó el porcentaje de floración.

Para diferenciar la miel de abeja monofloral de la polifloral, se tuvo en cuenta el contenido de polen de la muestra. Cuando el polen de una especie representó como mínimo el 45% de toda la muestra, la miel se clasificó como monofloral, de lo contrario se clasificó como polifloral (Felsner et al., 2004).

Para el análisis melisopalinológico de la miel, se colectaron dos muestras en distintas épocas, las cuales fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la Universidad de Nariño, y analizadas mediante la técnica de acetólisis de Erdtman (1969). Este método en esencia consiste en la destrucción de la celulosa y el contenido de granos de polen mediante ácidos, lo que permite identificar las estructuras relevantes para el análisis.

Para este método, primero se suspendió el material polinífero en ácido acético glacial. Luego, se centrifugó a 2500 rpm y se decantó. Al sedimento se le añadió 5 ml de mezcla acetolítica (una parte de ácido sulfúrico y nueve partes de anhídrido acético puro). En una campana de gases, esta mezcla fue calentada al baño maría hasta ebullición, agitándola con una varilla de vidrio. De dos a cuatro minutos después de alcanzar la temperatura de ebullición del agua, se detuvo el calentamiento, para luego centrifugar la muestra por cinco minutos. Posteriormente se decantó y se le añadió 5ml de ácido acético glacial para eliminar los restos de mezcla acetolítica. Tras un nuevo filtrado y decantado, se lavó la muestra tres veces. A continuación (con el fin de evitar el desarrollo de microorganismos), se añadió a los granos acetolizados 12 gotas de mezcla de glicerina y agua destilada a partes iguales, se agitó y se dejó en reposo durante 15 minutos. Finalmente se centrifugó y se decantó (Louveaux et al., 1972).

El preparado anterior se colocó en portaobjetos, para ello se transfirió un poco de sedimento polínico y sobre una placa calefactora se dejó evaporar el agua de la muestra. Posteriormente se añadió una gota de glicerogelatina y se colocó el cubreobjetos. Las preparaciones fueron mantenidas boca abajo durante al menos 24 horas y posteriormente se sellaron con laca de uñas para su conservación.

Para observar las placas, se utilizó un microscopio modelo Nikon eclipse E- 200 con el objetivo panorámico 100x, el cual tenía incorporada una cámara *Advanced Optical*.

Para la determinación de las características polínicas del trébol blanco, se tomó doce muestras por corte (periodo) y se procedió a realizar la identificación de los granos de polen, mediante las características observadas en el trabajo de Criollo-Urrego et al. (2013). Posteriormente se midió y se determinó la forma del polen.

Para la toma y organización de datos se utilizó el programa Microsoft Excel 2007. Todas las variables se analizaron mediante estadística descriptiva y gráficos estadísticos. Además, la comparación entre ambas épocas de colección de la muestra, en las variables melisopalinológica se realizó mediante la prueba de Chi-cuadrado ($p < 0,05$) y el tamaño del polen se comparó mediante la prueba t de Student ($p < 0,05$); estos análisis se realizaron en el paquete estadístico SPSS versión 20.

Resultados y Discusión

En la [tabla 1](#), se observa el porcentaje de polen hallado en la miel de abejas cosechada en dos épocas distintas, mientras que en la [figura 1](#) el contenido de polen por familias taxonómicas.

Tabla 1. Porcentaje de polen encontrado en la miel de abejas (*Apis mellifera*).

Especie	Miel 1**		Miel 2**	
	% de polen	Calificación	% de polen	Calificación
<i>Solanum tuberosum</i>	23,9	F	24,5	F
<i>Brassica napus L.</i>	17,9	PF	22,4	F
<i>Trifolium repens</i>	20,9	F	12,2	PF
<i>Cleome anómala</i>	16,4	PF	10,2	PF
<i>Calceolaria colombiana</i>	10,4	PF	4,1	R
<i>Polygonum nepalense</i>	4,5	R	16,3	PF
<i>Tecoma stans</i>	1,5	R	4,1	R
<i>Agapanthus</i>	1,5	R	2	R
<i>Tibouchina mollis</i>	1,5	R	2	R

MF: Muy frecuente, F: Frecuente, PF: Poco frecuente, R: Raro. ** Miel No. 1: abril 26, Miel No 2: mayo 19

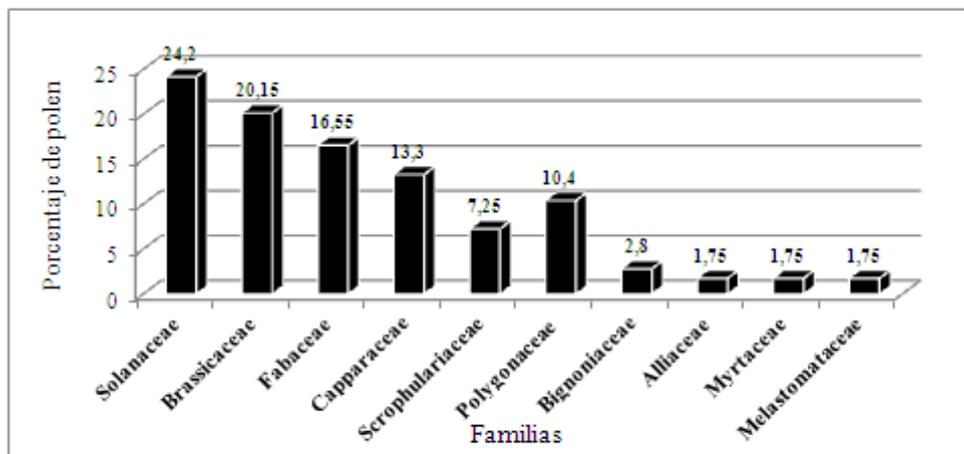


Figura 1. Porcentaje de polen en la miel de abejas según familia taxonómica.

En la [tabla 1](#) y [figura 1](#) se observa que el porcentaje más alto de polen lo presentó la familia *Solanaceae*, seguido de la familia *Brassicaceae*, lo cual indica que el pecoreo de las abejas se dio en mayor proporción en la flora aledaña al cultivo de trébol blanco. El polen de trébol blanco se observó en la miel de abejas, aunque no presentó el más alto valor de aparición en la miel, sí alcanzó valores de 20,9% y ocupó el tercer lugar.

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado indican que no existieron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de polen hallado en la miel de abejas, en las dos cosechas realizadas ($p > 0,05$), lo cual muestra similares características de composición nutricional en cuanto a polen.

Con respecto a la familia *Fabaceae*, Faricelli et al. (2004) mencionan que, es predominantemente entomófila y constituye la principal fuente de néctar y polen para las abejas. De acuerdo con lo anterior, la proporción de polen en la miel está directamente relacionada con el tipo de vegetación, y el periodo de floración de las plantas. De igual manera, la variabilidad de características depende del material vegetal, del cual las abejas han extraído el néctar para elaborar su miel y por consiguiente de la región geográfica en que se encuentra ubicado el apiario (Cornejo, 1994).

Una abeja obrera cosecha polen de una sola o varias especies. El color del polen es propio de una especie botánica definida (Cornejo, 1994). Las abejas de una misma colonia pueden recolectar cinco a diez especies el mismo día. Algunos pólenes no constituyen un alimento completo para las larvas y las abejas jóvenes, pero polen de varias especies pueden formar en conjunto un alimento completo. Según Chauvin (1976), cuanto más abundantes son las floraciones, más seleccionan las abejas el polen que les aporta un máximo de proteínas.

En cuanto a la familia taxonómica *Fabaceae*, las visitas realizadas por las abejas a la pradera de trébol blanco, se vio afectada por diversos factores: características florales tales como olor, color y abundancia, que interfirieron en el pecoreo de la pradera de trébol blanco y predispusieron a las abejas a pecorear otras fuentes de alimento.

En la [tabla 2](#), se observa las medidas del grano de polen colectado durante las dos épocas de corte, indicando que, el polen de mayor tamaño fue de 26,43 µm y el de menor 25 µm. Crompton & Wojtas (1993) encontraron valores de 25,7 y 30,4 µm, rango superior al observado en la investigación. Estas diferencias pueden ser el resultado de la variedad de trébol utilizada, las cuales pueden diferir en el tamaño del polen.

Tabla 2. Tamaño del grano de polen.

Tamaño del polen (micrómetros)			
Muestra	Corte 1	Corte 2	Promedio
1	26,25	25,00	25,60
2	25,00	25,00	25,00
3	31,25	30,00	30,60
4	28,75	28,75	28,70
5	26,25	25,00	25,60
6	25,00	25,00	25,00
7	26,25	28,75	27,50
8	27,25	25,00	26,10
9	27,25	30,00	28,60
10	31,25	28,75	30,00
11	26,25	31,25	28,70
12	27,25	27,50	27,30
Promedio	27,30	27,50	27,40

Corte (I): 8 de abril 2016. **Corte (II):** 27 de mayo 2016

Para el tamaño de grano de polen de trébol blanco, el análisis estadístico no encontró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre dos periodos de cosecha, lo cual se atribuye a la homogeneidad del tamaño del polen. Las abejas prefieren los pólenes de tamaño medio a pequeño. A veces cada colmena tiene sus propias apetencias en cuanto a recolección de polen. Según Sareen (2003), los estudios sobre el polen recolectado por las abejas pecoreadoras han puesto de manifiesto la fidelidad de los insectos a la especie visitada. En cultivos comerciales bien planificados, el número de bolitas que presentan mezcla de pólenes extraños apenas supera el 1 por 100. Hay que pensar por ello que el número de pecoreadoras que regresan con polen de otra procedencia no es indicio real de un cambio de fuente de aprovisionamiento. Podría tratarse, por ejemplo, de exploradoras que buscan nuevas fuentes de polen o de pecoreadoras de néctar que lo recolectaron al visitar otras flores.

En el presente estudio se encontró que los granos de polen de trébol blanco observados en la miel, se encuentran dentro de las medidas elegidas para las abejas. Por lo tanto, se observa una predilección por el pecoreo de esta especie, factor que es corroborado en la tabla de porcentajes de polen de la muestra evaluada, indicando que el trébol blanco es la tercera especie más representativa en la muestra (Ramírez, 2016). Estudios realizados en la Provincia de Santa Fe, Argentina, observaron que la familia con mayor frecuencia de aparición fue *Fabaceae*, seguida en importancia por las familias *Asteraceae*, *Apiaceae* y *Brassicaceae*; dentro de las fabáceas se destacó *Trifolium* sp. como la especie más representativa, observándose en el 96,8% de las muestras; de igual manera, se observó que *Melilotus* sp se representó en el 44,3%, *Lotus* sp. en el 37,4% y *Medicago sativa*, en el 34,2% (Wanzenried et al., 2006).

En la [figura 2](#), se observa la forma del grano de polen del trébol blanco.

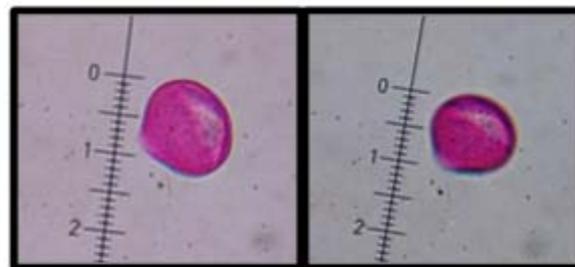


Figura 2. Microfotografías de los granos de polen de trébol blanco (*T.repens*) 100x.

De acuerdo con la figura anterior, el tamaño y forma del polen son esférico y prolada (cuando el eje polar es más largo que el eje ecuatorial), esta es una característica de las plantas angiospermas, a diferencia de los granos de polen de otras familias taxonómicas que presentan formas triangulares o rectangulares (Anero et al., 2004). Junto al trébol blanco se encontró polen acompañante de las otras familias taxonómicas, que corresponden a la floración de *Solanaceae* y *Brassicaceae*.

Conclusiones

En el análisis melisopalinológico de la miel de abeja, producida en el cultivo de trébol blanco (*Trifolium repens*), se encontró la presencia de polen de las familias taxonómicas *Solanaceae*, *Brassicaceae* y *Fabaceae*, ninguna de los tipos polínicos superó el 45%. De esta manera, la miel de abejas obtenida se clasifica de origen poliflorar, principalmente del néctar de flores de los cultivos de papa, nabo y trébol blanco y el tamaño del polen del trébol es adecuado para el uso de las abejas.

Referencias bibliográficas

- Anero, T.; Carabias, F.; Carretero, P. et al. **Aerobiología y polinosis de Castilla y León. Castilla y León**. 1ed. España: Editorial Nueva Comunicación, 2004. 120p.
- Barth, O. Melissopalynology in Brazil: A review of pollen analysis of honey, propolis and pollen loads of bee. **Science Agriculture (Piracicaba Braz)**, v.61, n.3, p. 342-350, 2004.
- Calderón, H. **Abejas, la miel y sus productos**. Biblioteca ilustrada del campo. Bogotá. Colombia: Biblioteca latinoamericana, 2004. 131p.
- Chauvin, R. "Les abeilles et moi". France: Hachette, 1976. 162p.
- Cornejo, L. **Polen, tecnología de su producción, procesado y comercialización**. La Plata. Argentina: Iptea, 1994. 114p.
- Criollo-Urrego, D.; Córdoba-Gómez, J. & Insuasty-Santacruz, E. Análisis melisopalinológico de la miel obtenida en el apiario de la granja experimental Botana. **Investigación Pecuaria**, v.2, n.2, p.49-57, 2013.
- Crompton, C. & Wojtas, W.A. **Pollen grains of Canadian honey plants**. Centre for Land and Biological Resources, Canada: Agriculture Canada, 1993. 33p.
- Erdtman, G. **Handbook of Palynology**. New York, USA: Haffner Publication Co. 1969. 320p.
- Faricelli, M.; Kraus, T.A. & Bianco, C.A. Análisis palinológico de las especies melitófilas de la familia Fabaceae del centro de la Argentina. **Revista FAVE. Ciencias Agrarias**, v.3, n.1-2, p.13-23, 2004.
- Felsner, M.; Cano, C.; Bruns, R. et al. Characterization of monofloral honey by ash contents through a hierarchical design. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, p.737-747, 2004.

- Herrero, B.; Valencia-Barrera, R.; San Martín, R. et al. Characterization of honeys by melissopalynology and statistical analysis. **Canadian Journal of Plant Science**, v.82, p.75-82, 2002.
- Nates-Parra, G.; Montoya, P.M.; Chamorro, F.J. et al. Origen geográfico y botánico de mieles de *Apis mellifera* (Apidae) en cuatro departamentos de Colombia. **Acta Biológica Colombiana**, v.8, n.3, p.427-438, 2013.
- Louveaux, J.; Maurizio, A.; Vorwohl, G. Methods of Melissopalynology. **Bee World**, v.59, p.139-157, 1972.
- Piedras-Gutiérrez, B. & Quiroz-García, D.L. Estudio melisopalínológico de dos mieles de la porción sur del Valle de México. **Polibotánica**, v.23, p.57-75, 2007.
- Ramírez, Y. **Efecto del tiempo de secado en las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del polen de abejas (*Apis mellifera*)**. Zamora, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, 2016. 31p. Tesis (Ingeniería en Agroindustria Alimentaria).
- Sánchez, C. **Crianza y Producción de Abejas. Apicultura**. Lima 36-Peru: Colección Granja y Negocio, 2003. 135p.
- Sareen, S. **Variability in white clover from the Indian Himalaya**. India: Regional Research Centre. Indian Grassland, Fodder and Agroforestry Research Institute. HPKV Campus Palampur, 2003. 100p.
- Sawyer, R. **Honey Identification**. Cardiff, UK: Cardiff Academia Press. 1988. 420p.
- Von Der Ohe, W.; Persano, L.; Piana, M. et al. Harmonized methods of melissopalynology. **Apidologie**, v.35, p. S18-S25, 2004.
- Wanzenried, R; Gaggiotti, M; Caporgno, J. et al. Caracterización botánica de mieles del centro de la provincia de Santa Fe. **Memorias Congreso Internacional de Alimentos, 2001-2003**, Córdoba, Argentina., 2006. p. 458.

Cómo citar: Insuasty-Santacruz, E.; Martínez-Benavides, J. & Jurado-Gámez H. Determinación melisopalínológica de miel de abejas *Apis mellifera* producida con flora de clima frío, principalmente *Trifolium repens* L. **Revista Veterinaria y Zootecnia**, v. 11, n. 1, p. 74-82. DOI: 10.17151/vetzo.2017.11.1.6