



**Aplicación de una metodología para determinar el origen floral de polen recolectado por *Apis mellifera* L., Cuba**

**Application of a methodology for determinate the floral origin of pollen collected by *Apis mellifera* L., Cuba**

**Autor (es):** Lic. Lilian San Martín Echemendía, Ing. Juan Carlos Pérez Morales y Téc. Yaneisy Naranjo.

Centro de Investigaciones Apícolas, Carretera de El Cano a El Chico, Km 0, El Cano, Arroyo Arenas, La Lisa, CP. 19190, La Habana, Cuba. Teléfonos: 7280 7027 y 7280 7890.

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

**Recibido:** 12 – 12 - 19

**Aprobado:** 16 – 12 - 19

## RESUMEN

El polen fresco es un alimento crudo, rico en nutrientes y fácilmente asimilable. Los métodos de ensayo palinológico para la diferenciación y clasificación del polen son trabajosos y costosos. Considerando esto evaluamos una metodología sencilla, sin empleo de tratamientos químicos, que permitiera diferenciar los granos de polen, determinar la representatividad de cada especie floral y tipificar el polen en monofloral, polifloral o bifloral. Se analizaron seis muestras de polen fresco provenientes de las provincias Artemisa y Mayabeque durante los años 2018 y 2019. Se separaron las pelotas de polen corbicular de cada muestra en grupos definidos por color. El análisis microscópico de los granos de polen permitió diferenciar 12 tipos polínicos, de los cuales el grano de polen de palma real estuvo presente en las seis muestras. Los granos de polen pertenecientes a las familias Arecaceae, Asteraceae, Mimosaceae y Fabaceae se observaron en al menos tres de las muestras. A partir del porcentaje en peso de cada grupo de color se clasificaron tres muestras en biflorales y tres en monoflorales o de palma real. Las familias identificadas están catalogadas en Cuba como fuentes poliníferas importantes para las abejas.

**Palabras clave:** polen apícola, polen fresco, composición polínica, montaje al natural.

## ABSTRACT

Fresh pollen is a raw food, rich in nutrients and easily assimilated. The palynological test methods for pollen differentiation and classification are laborious and expensive. Considering this, we evaluate a simple methodology, without the use of chemical treatments that would allow the differentiation of pollen grains, determine the representativeness of each floral species and typify pollen in monofloral, polifloral or bifloral. Six samples of fresh pollen from the Artemisa and Mayabeque provinces during the years 2018 and 2019 were analyzed. Corbicular pollen balls were separated from each sample into groups defined by color. The microscopic analysis of the pollen grains allowed differentiating 12 pollen types, of which the real palm pollen grain was present in the six samples. Pollen grains belonging to the Arecaceae, Asteraceae, Mimosaceae and Fabaceae families were observed in at least three of the samples. From the weight percentage of each color group, three samples were classified in bifloral and three in monofloral or real palm. The families identified are listed in Cuba as important polyniferous sources for bees.

**Keywords:** bee pollen, fresh pollen, pollen composition, natural assembly.

## INTRODUCCIÓN

El polen, entre los nutrientes florales, es la principal fuente de proteínas, aminoácidos, lípidos, esteroides, vitaminas y minerales fundamentales para el desarrollo fisiológico y de las glándulas hipofaríngeas de la abeja (Brodschneider y col 2010). Adicionalmente, influye en la longevidad, la susceptibilidad a los patógenos (Rinderer y col. 1974, Rinderer y col. 1977), la supervivencia (Roulston y col .2000, Basualdo y col. 2014) y la inmunocompetencia individual y social (Alaux y col. 2010). El polen puede variar entre especies florales de acuerdo a su contenido nutricional, por lo que algunos son considerados de mejor calidad para las abejas que otros (Odoux y col. 2012).

El hombre ha encontrado en el polen un suplemento alimenticio y es considerado como un regulador del equilibrio orgánico, de funciones vitales y estimulante del crecimiento (Marchini y col. 2006). Para su comercialización, Louveauxy col. (1978) clasificó el polen apícola según su origen botánico, en monofloral, bifloral o polifloral. Esta clasificación, de acuerdo con la Norma Chilena (Montenegro y col. 2011), se determina por la composición de especies vegetales que conforman la muestra del polen expresada en porcentaje en peso y la diferenciación del polen apícola se realiza mediante ensayo palinológico. En la Norma señalada el polen se tipifica en: monofloral (al menos el 45 % del total de los cúmulos corbiculares pertenecen a una misma especie vegetal), bifloral (al menos el 50 % pertenecen a dos especies vegetales) y polifloral (al menos tres o más especies vegetales presentan un porcentaje menor del 45 % del total de las especies presentes en una muestra). Numerosos estudios han empleado la acetólisis de Erdtman (1960) para el ensayo palinológico del polen corbicular (García y col. 2002, Sayas Rivera y col. 2009). Esta técnica permite visualizar con facilidad, la pared externa o exina del polen como resultado de la degradación de la intina y el protoplasma (Fonnegra, 1989). Sin embargo, requiere la ejecución de mayor número de procedimientos y empleo de reactivos altamente corrosivos (Tellería y col. 2002). Por otra parte, la Técnica de montaje y observación al natural no incluye tratamientos químicos, requiere menos tiempo y ha sido empleada en metodologías para diferenciar el polen apícola según su origen botánico de manera exitosa (Maurizio, 1975, Louveaux y col. 1978).

En Cuba se han realizado estudios polínicos a partir de polen apícola seco y fresco (Machado y col. 2000, Estévez y col. 2011). Sin embargo, los estudios realizados sobre este último son escasos. El polen fresco es un alimento crudo, rico en nutrientes y fácilmente asimilable. Su congelación permite preservar la integridad de sus cualidades nutricionales, incluyendo su agradable olor, sabor y textura (Thibault, 2016). Este trabajo tiene como objetivo aplicar la metodología de montaje de muestras de polen fresco en estado natural recolectado por *apis mellifera* para determinar su composición polínica y clasificarlas según su origen floral.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se colectaron 250 g de polen fresco (refrigerado a -18 °C) a partir de seis lotes provenientes de las provincias Artemisa y Mayabeque en los años 2018 y 2019. El análisis de las muestras se realizó siguiendo el método propuesto por Montenegro y col. (1992). De cada muestra se tomaron submuestras de 8 g. Las pelotas de polen de cada submuestra fueron separadas por grupos de color sobre un fondo blanco.

Se pesó cada grupo de color resultante para determinar el porcentaje en peso (% p/p) del total de la muestra. Posteriormente se seleccionó una pelota de polen corbicular de cada grupo, el cual se dividió a la mitad para facilitar su observación mediante microscopía óptica. Cada mitad fue colocada sobre un portaobjetos previamente numerado y se maceró hasta obtener una pasta homogénea. Se le añadió una gota de etanol 99.5 % y se secó en una plancha calefactora.

Para teñir los granos de polen se empleó glicerogelatina teñida con fucsina básica, tinción específica que resalta su morfología externa y facilita su identificación. El colorante se elaboró siguiendo las indicaciones propuestas por Soldevilla y col. (2007), la cual consiste en diluir 50 ml de glicerina, 7 g de gelatina, 1 g de fenol y una 1 g de fucsina básica en 42 ml de agua destilada. La mezcla resultante es de color rosado. En cada cubreobjetos se dispuso unas gotas del colorante en forma de cruz y posteriormente se colocó encima de los portaobjetos. Las muestras se secaron para lograr una coloración uniforme y se selló la superficie con esmalte de uñas transparente para su conservación como fue descrito por Soldevilla (2007).

Las preparaciones fueron analizadas por observación directa utilizando un microscopio óptico a 400X. El reconocimiento taxonómico se realizó a nivel de especie cuando fue posible y a nivel de familia o de tipo polínico que contienen géneros afines (Louveaux y col. 1978). Para ello se tuvieron en cuenta las características morfológicas de la pared externa de los granos (Sauri Duch, 1998) y se comparó con fotografías y catálogos de polen (Machado y col. 2000, Montoya-Pfeiffer y col. 2014).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las seis muestras se obtuvieron 20 grupos de color, con un promedio de 4.7 grupos por muestra (entre 4 y 6 por cada muestra). El porcentaje en peso de cada grupo de color permitió conocer la representatividad de cada tipo polínico en la muestra. Siguiendo el criterio de la Norma Chilena (2011) se tipificaron en bifloral las muestras 1 (*Bursera simaruba*: 26.2 % y *Arecaceae*: 25.8 %), 3 (*Asteraceae*: 37.0 % y *Fabaceae*: 38.5 %) y 5 (*Roystonea regia*: 24.5 % y *Cocos nucifera*: 43.8 %) y en monofloral o de palma real las muestras 2 (95.7 %), 4 (95.0 %) y 6 (73.6 %) (Figura 1).

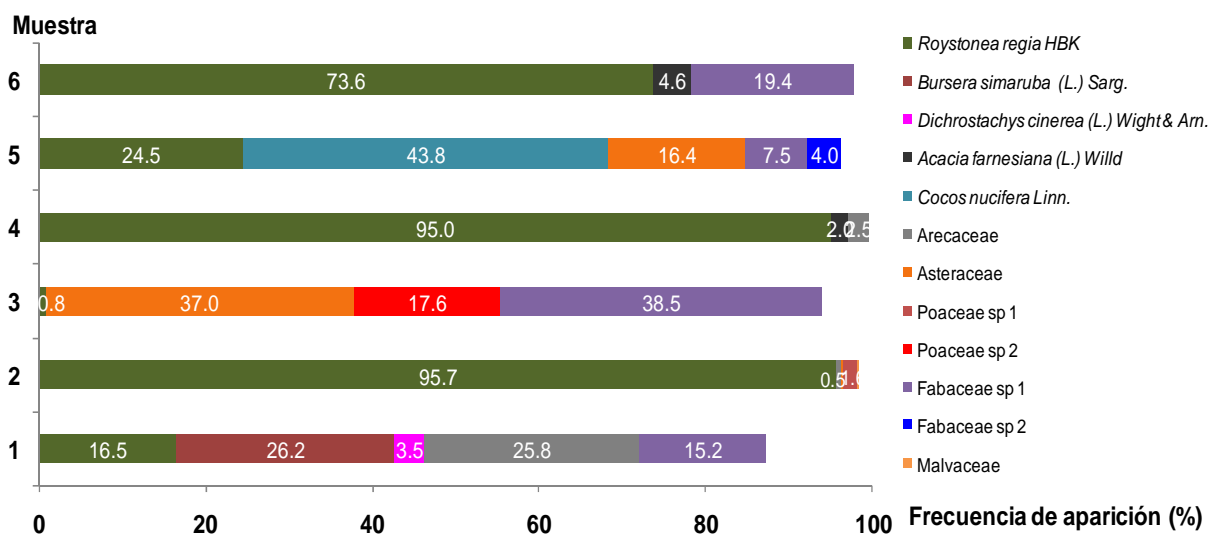


Figura 1 Frecuencia de aparición (%) de los tipos polínicos encontrados en seis muestras de polen fresco.

Como cada grupo de color se corresponde a un tipo polínico se diferenciaron en total 12 tipos polínicos, de los cuales cinco fueron identificados a nivel de especie y siete a nivel de familia. Las familias *Arecaceae*, *Asteraceae*, *Mimosaceae* (*Dichrostachys cinerea* o marabú y *Acacia farnesiana* o aroma) y *Fabaceae* fueron detectadas en al menos tres muestras (Figura 1). Las primeras cuatro familias comprenden a plantas poliníferas como la palma real (*Roystonea regia*), otras especies de palmas, el romerillo blanco (*Bidens pilosa* L.) y de costa (*Viguiera helianthoides* H.B.K) y el aroma respectivamente, las cuales están catalogadas en nuestro país como fuentes poliníferas importantes para las abejas (Pérez, 2007). Por otra parte, la familia *Fabaceae* se caracteriza por presentar una marcada biodiversidad y se encuentra entre las más representadas en el país (Barreto, 1990). De los tipos polínicos encontrados se observa la predominancia de polen de palma real, el cual está presente en todas las muestras, con más abundancia particularmente en la muestra 2, 4 y 6. Esta

especie es un elemento indispensable del paisaje cubano (Machado y col. 2000), proporciona polen durante todo el año, siendo la fuente principal para las colmenas en los meses de agosto y septiembre (Pérez, 2007).

## CONCLUSIONES

La metodología de montaje al natural aplicada permitió determinar la composición polínica de seis muestras de polen fresco. Se diferenciaron 12 tipos polínicos, cinco a nivel de especie y siete a nivel de familia. Las familias Arecaceae, Asteraceae, Mimosaceae y Fabaceae fueron detectadas en al menos tres muestras y particularmente en todas las muestras se observó el grano de polen de palma real. A partir del porcentaje en peso de cada tipo polínico se tipificaron las muestras 1, 3 y 5 como biflorales y las muestras 2, 4 y 6 como monoflorales o de palma real.

## Agradecimientos

Especial agradecimiento a los Máster en Ciencias Thais Guillen Otero, Anais Rodríguez Luis, Carlos Ariel Yadró García y Adolfo Pérez Piñeiro por su contribución durante la preparación del trabajo, revisión y sugerencias.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alaux, C., F. Ducloz, D. Crauser and Y. Le Conte (2010). "Diet effects on honeybee immunocompetence." *Biology letters* 6: 562-565.
2. Barreto, A. (1990). "Botánica de las leguminosas." Instituto de Ecología y Sistemática. La Habana, Cuba.
3. Basualdo, M., S. Barragán and K. Antúnez (2014). "Bee bread increases honeybee haemolymph protein and promote better survival despite of causing higher *N. osea ceranae* abundance in honeybees." *Environmental microbiology reports* 6: 396-400.
4. Brodschneider, R. and K. Crailsheim (2010). "Nutrition and health in honey bees." *Apidologie* 41: 278-294.
5. Erdtman, G. (1960). "The acetolysis method-a revised description." *Sven Bot Tidskr* 54: 516-564.
6. Estévez, Y., G. R. Castro, T. M. Peña and T. Y. Díaz (2011). "Implementación del ensayo: análisis polínico para productos apícolas."

7. Fonnegra, R. (1989). "Introducción a la palinología." Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia.
8. García, D. L. Q., M. d. I. L. A. Sánchez and S. A. Vizarro (2002). "Morfología de los granos de polen de la familia Polemoniaceae del estado de Querétaro, México." *Polibotánica*: 57-66.
9. Louveaux, J., A. Maurizio and G. Vorwohl (1978). "Methods of melissopalynology." *Bee world* 59: 139-157.
10. Machado, S. and L. Sotolongo (2000). *Polen de las principales plantas melíferas de Cuba*, Apiciencia.
11. Marchini, L. C., V. D. A. dos Reis and A. C. d. C. C. Moreti (2006). "Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo." *Ciência Rural* **36**: 949-953.
12. Maurizio, A. (1975). "Microscopy of honey." *Honey: A Comprehensive Survey*. E. Crane, ed.
13. Montenegro, G., M. Gomez and G. Avila (1992). "Importancia relativa de especies cuyo polen es utilizado por *Apis mellifera* en el área de la Reserva Nacional Los Ruiles, VII región de Chile." *Acta botánica malacitana* **17**: 167-174.
14. Montenegro, G., M. Gomez, P. Estay and X. Ortega (2011). "Polen apícola—Calidad de la colmena para polinización y diferenciación del polen según origen botánico mediante ensayo palinológico." Norma Chilena NCh3255. c2011. Instituto Nacional de Normalización, Santiago, Chile. Versión Final Comité—Septiembre.
15. Montoya-Pfeiffer, P. M., D. León-Bonilla and G. Nates-Parra (2014). "Pollen catalog for *Apis mellifera* honey from coffee regions in the Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia." *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* **38**: 364-384.
16. Odoux, J.-F., D. Feuillet, P. Aupinel, Y. Loublier, J.-N. Tasei and C. Mateescu (2012). "Territorial biodiversity and consequences on physico-chemical characteristics of pollen collected by honey bee colonies." *Apidologie* **43**: 561-575.
17. Pérez, A. (2007). "Manual de apicultura." La Habana, Cuba: Agrinfor.
18. Rinderer, T. E. and K. Dell Elliott (1977). "Worker honey bee response to infection with *Nosema apis*: influence of diet." *Journal of Economic Entomology* **70**: 431-433.
19. Rinderer, T. E., W. C. Rothenbuhler and T. A. Gochnauer (1974). "The influence of pollen on the susceptibility of honey-bee larvae to *Bacillus* larvae." *Journal of invertebrate pathology* **23**: 347-350.

20. Roulston, T. a. H., J. H. Cane and S. L. Buchmann (2000). "What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen–pistil interactions, or phylogeny?" *Ecological monographs* 70: 617-643.
21. Sauri Duch, E. (1998). "Plantas melíferas más importantes de la península de Yucatan (México) y principales características de su polen. II. Catálogo de las características de las plantas y de sus granos de polen." *Apiacta* 33: 56-64.
22. Sayas Rivera, R. and L. Huamán Mesía (2009). "Determinación de la flora polinífera del valle de Oxapampa (Pasco-Perú) en base a estudios palinológicos." *Ecología aplicada* 8: 53-59.
23. Soldevilla, C. G., P. C. González, P. A. Teno and E. D. Vilches (2007). *Manual de calidad y gestión de la Red Española de Aerobiología*.
24. Telleria, I. and M. Sarasola (2002). "Análisis de polen corbicular recolectado durante los años 2002 y 2003 en los colmenares de estudio eco-etológico de Oñati y Goizueta. [http://www.euskadi.eus/contenidos/informe\\_estudio/eco\\_etológico\\_abejas/es\\_doc/adjuntos/analisis\\_polínico.pdf](http://www.euskadi.eus/contenidos/informe_estudio/eco_etológico_abejas/es_doc/adjuntos/analisis_polínico.pdf)
25. Thibault, M. (2016). *Le pollen apicole: ses propriétés et ses utilisations thérapeutiques*, Université de Lorraine.