



**Universidad de la República
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**RELEVAMIENTO Y EVOLUCION
DE LA FLORA APICOLA CON MIRAS
A LA TIPIFICACION DE MIELES
DE LA ZONA DE LOS PALMARES
DE ROCHA**

por

Mariela SANCHEZ

T E S I S

1998

MONTEVIDEO

URUGUAY

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA

**RELEVAMIENTO Y EVOLUCION
DE LA FLORA APICOLA CON
MIRAS A LA TIPIFICACION DE
MIELES DE LA ZONA DE LOS
PALMARES DE ROCHA.**

por

Mariela SANCHEZ

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniera Agrónoma.
(Orientación Agrícola Ganadera)

MONTEVIDEO
URUGUAY
1998

Tesis aprobada por:

Directores:

Ing. Agr. DANIEL BAZZUERO

Nombre completo y firma.

Ing. Agr. STELLA GRUN

Nombre completo y firma.

Ing. Quím. CARLOS SILVERA

Nombre completo y firma.

Fecha:

Autor:

..... MARIELA SÁNCHEZ 

Nombre completo y firma.

Calificación: 8

AGRADECIMIENTOS.

A las familias Correa y Ortiz por la atención dispensada.

Al Ing. Agr. Eduardo Marchesi por la ayuda en la identificación de las especies.

TABLA DE CONTENIDO.

<u>PAGINA DE APROBACION.</u>	II
<u>AGRADECIMIENTOS.</u>	III
<u>LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.</u>	IV
<u>1. INTRODUCCION.</u>	1
<u>2. REVISION BIBLIOGRAFICA.</u>	3
2.1-OBJETIVOS Y VENTAJAS DE LA TIPIFICACIÓN DE MIELES POR ORIGEN BOTANICO Y POR DENOMINACION DE ORIGEN.	3
2.2-CARACTERISTICAS DE LA ZONA EN ESTUDIO.	6
2.3-PALINOLOGIA.	6
<u>2.3.1-Definición y antecedentes.</u>	6
<u>2.3.2-Morfología del grano de polen.</u>	7
2.3.2.1-Generalidades.	7
2.3.2.2-Polaridad.	7
2.3.2.3-Forma.	8
2.3.2.4-Tamaño.	9
2.3.2.4.1-Clasificación de tamaño.	9
2.3.2.4.2-Variación de tamaño.	10
2.3.2.5-Aperturas.	10
<u>2.3.3-Estructura general del grano de polen.</u>	12
2.3.3.1-Exina.	12
2.3.3.2-Intina.	12
<u>2.3.4-Escultura.</u>	13
2.3.4.1-Tipos de escultura.	13
2.3.4.2-Elementos esculturales.	14
<u>2.3.5-Técnicas de estudio.</u>	14

	VI
<u>4.-RESULTADOS Y DISCUSION.</u>	39
4.1-CALENDARIO DE FLORACION.	39
4.2-MUESTREO DE POLEN EN NECTAR.	42
4.3-MUESTREO DE POLEN A NIVEL DE PIQUERA.	45
4.4-CARACTERIZACION EXTERNA DEL GRANO DE POLEN DE <i>BUTIA CAPITATA</i> .	47
<u>5.-CONCLUSIONES.</u>	49
<u>6.-RESUMEN.</u>	52
<u>7.-BIBLIOGRAFIA.</u>	53
<u>8.-APENDICE.</u>	56

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.**Cuadro N°:**

1	Calendario de floración	39
2	Promedios porcentuales de polen relevado a nivel de piquera por fecha y especie.	56
3	Promedios porcentuales de polen en néctar de las distintas especies por fecha.	57

Figura N°:

1	Muestreo de polen en néctar (análisis cualitativo).	42
2	Muestreo de polen en néctar (análisis cuantitativo)	44
3	Muestreo de polen a nivel de piquera.	45

1.-INTRODUCCION

La apicultura en Uruguay es un rubro que ha adquirido gran importancia gracias a su constante avance en los últimos treinta años. El aumento se dio en los volúmenes de producción y en los de exportación, como consecuencia de un aumento del número de productores, del número de colmenas y de la producción por colmena.

Hoy por hoy, la apicultura se practica a nivel de todo el territorio nacional y existe un gran potencial por explotar.

Según una encuesta realizada a productores del sistema cooperativo (INIA, 1991); sólo el 36.5 % de los productores son apicultores que sólo se dedican a esta actividad, mientras que para el resto de los productores la apicultura es un rubro complementario.

Actualmente en Uruguay existe un laboratorio paraestatal denominado Laboratorio Tecnológico del Uruguay (L.A.T.U); donde se analizan todas las mieles con destino a la exportación, allí se controla la calidad de las mismas en cuanto a sabor, aroma, color, propiedades fisicoquímicas, etc. .

Con el fin de aumentar el valor agregado de la miel y cumplir con las exigencias del mercado externo y de los consumidores en el país, se han comenzado a implementar estudios más profundos. Uno de ellos, es el análisis polínico de la miel que permite caracterizarla y tipificarla botánicamente.

Según el diccionario de la Real Academia citado por Lemarquand Mulet (1982), "tipificación" es acción y efecto de "tipificar". Entendiéndose por tipificar el hecho de ajustar varias cosas semejantes a un tipo o norma común.

La investigación en el departamento de Rocha sobre el tema tipificación botánica de miel fue iniciada en 1994 con el proyecto "Tipificación de miel de palma en la zona norte del departamento de Rocha", a través del convenio P.R.O.B.I.D.E.S (Programa de Conservación de la Biodiversidad y Desarrollo Sustentable en los Humedales del Este)-Facultad de Agronomía, que ofreció resultados alentadores y grandes perspectivas para su continuación.

El objetivo general del presente trabajo es identificar y cuantificar los distintos tipos polínicos en las muestras de néctar para intentar en un futuro cercano la tipificación de la miel por origen botánico como miel de palma y/o lograr una denominación de origen como miel de una comunidad biótica especial de bañado.

Para lograr tal objetivo se plantearon una serie de objetivos particulares:

- 1) el relevamiento y estudio de la evolución de la flora apícola en la zona de los palmares a través de un herbario, y una palinoteca de referencia.
- 2) elaborar un calendario floral para ver si existe una relación directa entre especies florecidas y especies presentes en néctar y a nivel de piquera.
- 3) ponderar el uso de la flora de la zona por parte de las abejas a través del polen recolectado en las trampas de polen.
- 4) analizar cuali y cuantitativamente los contenidos polínicos de los néctares producidos en la zona en el período de estudio.

Algunos de los principales pilares que justifican el trabajo realizado, es la gran extensión ocupada por los palmares (70.000 há.) y su exclusiva presencia a nivel mundial.

Además, la elección de la especie *Butia capitata* se debió a que es una especie de interés apícola donde la abeja trabaja con gran avidez.

Bazzurro et. al. (1996), indicaron que para poder producir y tipificar botánicamente la miel de *Butia capitata*, se deben aplicar una serie de conocimientos y técnicas, que engloban desde la biología de la abeja hasta la fenología y el comportamiento de la flora en torno a los palmares. Esto es esencial ya que las características físicas, químicas y organolépticas de las mieles, varían de acuerdo a las especies botánicas en la que la abeja trabaja, y el predominio de una u otra en el producto final.

2.-REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1- OBJETIVOS Y VENTAJAS DE LA TIPIFICACION DE MIELES POR ORIGEN BOTANICO Y POR DENOMINACION DE ORIGEN.

Actualmente en el mercado internacional la gran mayoría de las mieles se comercializan clasificadas por color, aroma, sabor, propiedades fisicoquímicas, etc.; aunque existe una alta tendencia a la comercialización de mieles diferenciadas por origen botánico y/o geográfico.

La tipificación de mieles tiene algunas ventajas: permite aumentar el valor agregado de las mieles, lleva a una mayor especialización y tecnificación de los productores, mejora la competencia y permite verificar la autenticidad del producto en cuanto a su procedencia, características y propiedades.

Louveaux et al. (1978), señalaron que el origen botánico y geográfico de las mieles se puede determinar a través de análisis cualitativos y cuantitativos del contenido polínico de las mismas.

El origen botánico de una miel se deduce a partir de las frecuencias en que se hallan los distintos pólenes contenidos en la miel. La tipificación de miel por este origen tiene como objetivos fundamentales la caracterización e individualización del producto satisfaciendo las exigencias del mercado.

La tipificación de miel por origen geográfico o denominación de origen, tiene como objetivo conocer la procedencia de las mieles y se determina por la presencia de pólenes o combinaciones de pólenes, característicos de determinada región o zona.

Respecto a este punto, el Reglamento Técnico MERCOSUR de Identidad y Calidad de la miel (1995), señala que las mieles se clasificaran en *mieles de flores*, obtenidas principalmente del néctar de las flores; y *mieles de mielada*, provenientes de secreciones de las partes vivas de las plantas o excreciones de insectos succionadores de plantas, presentes en ellas.

Las mieles de flores según el citado reglamento se clasifican en:

-*mieles uniflorales*: son aquellas provenientes principalmente de flores de una misma familia, género o especie y tengan características sensoriales, fisicoquímicas y microscópicas propias.

-*mieles multiflorales*: son aquellas provenientes de flores de distintas familias, géneros o especies.

Maurizio (1949), indicó que las mieles uniflorales son aquellas mieles que provienen principalmente de una especie vegetal determinada, y donde la misma está representada dentro de su espectro polínico, en más de un 45%. Por otra parte deberá presentar un conjunto de propiedades fisicoquímicas y organolépticas características.

Cabe destacar que el porcentaje de polen citado por Maurizio (1949) para denominar una miel unifloral, varía con la representatividad que tenga el polen de la especie en cuestión dentro de la miel en estudio.

Según Louveaux et al. (1978) se dan dos casos especiales de polen en la miel, pueden estar sobre o subrepresentados.

Pólenes subrepresentados son aquellos que aparecen en los sedimentos de miel en porcentaje inferior a los que realmente representan, siendo buenos ejemplos los pólenes de *Citrus sp.*, *Lavandula sp.*, *Rosmarinus sp.*, *Salvia sp.*, *Robinia sp.*, *Tilia sp.*, *Medicago sp.*

Las mieles con dichos tipos de pólenes muestran bajo número absoluto de granos de polen.

Pólenes sobrerepresentados son aquellos que se hallan en los sedimentos de miel en porcentajes superiores a los que realmente representan. Las mieles con este tipo de pólenes presentan un alto contenido absoluto de polen. Ej: *Myosotis sp.*

Diferentes factores determinan el hecho de que los pólenes se encuentren sobre o subrepresentados en la miel.

Es sabido que existen distintos tipos de especies apícolas, *poliníferas*: aquellas especies de donde la abeja extrae sólo polen; *nectaríferas* de donde extrae sólo néctar y *poli-nectaríferas* donde la abeja extrae tanto polen como néctar. Aunque no es una causa de sobre o subrepresentatividad de polen en la miel, es un factor que influye al momento de determinar el origen botánico de la misma a través del contenido polínico, ya que las especies sólo nectaríferas generalmente no son detectables.

La facilidad de acceso que tenga la abeja para lograr extraer el néctar y el polen de la flor, depende básicamente de la anatomía y estructura floral. Según Howes (1953), en flores de corola abierta como la del manzano (*Malus pumila*), la abeja trae hacia ella las anteras y con sus patas extrae el polen que luego deposita en sus cestillos. En flores pequeñas y amentos florales como los del sauce (*Salix humboldtiana*), la abeja se desplaza sobre las flores y cepilla las anteras. En flores tubulares como las de tréboles (Familia *Leguminosae*), el polen se adhiere a los órganos bucales y patas delanteras de la abeja, ya que se dificulta el acceso de la abeja a los nectarios y anteras. La representatividad del polen en la miel está determinada en cierta parte por la facilidad con que la abeja pueda extraer el polen.

El néctar se produce en los nectarios de la planta, los cuales pueden encontrarse dentro de la flor (floral), o fuera de ella (extrafloral). La ubicación de los nectarios también determina la representatividad del polen en la miel, pudiendo ser mayor cuando los nectarios son florales debido al acarreo de polen adherido al cuerpo de la abeja. Louveaux (1968), citado por Lemarquand Mulet (1982), indica que el polen puede caer sobre los nectarios antes de que la abeja visite la flor y ser transportado en el néctar, aunque esto depende de la morfología de la misma.

El tipo de sistema reproductivo afecta la representatividad del polen en miel, siendo más representativo en las plantas monoicas y hermafroditas que en las dioicas, debido a que en las primeras el polen y néctar se hallan en la misma planta.

La frecuencia con que se presenta una especie principalmente polinífera en la zona de estudio, la producción de polen de dicha especie y el largo del período de floración también afecta la representatividad del polen en miel.

Louveaux (1968), citado por Lemarquand Mulet (1982), indica que el manejo del apicultor al desopercular panales en los que hay polen sería una causa importante de variación del espectro polínico. Al desopercular panales que contienen celdas con polen, una gran cantidad de polen es arrastrado junto con el opérculo y otra parte queda adherida al panal.

Otro factor que puede determinar la sub o sobre representatividad del polen en miel, es el momento de maduración del polen con respecto al momento en que comienza la secreción de néctar.

2.2 - CARACTERISTICAS DE LA ZONA EN ESTUDIO

El ensayo se desarrolló en la zona Norte del departamento de Rocha donde los palmares presentan una densidad aproximada de 80 plantas por hectárea y la vegetación asociada a ellas es típica de bañado y monte natural.

Los palmares en esta zona, tienen una baja densidad poblacional como consecuencia de la falta de reposición de ejemplares. La principal causa de esta baja reposición es el pastoreo con ganado que elimina los renuevos.

Otro factor que ha contribuido a tal disminución es el efecto del agregado de fertilizantes y herbicidas al suelo debido al cultivo de arroz.

Esta zona se caracteriza por ser típicamente arroceras con suelos planosoles, que se hallan irrigados durante la primavera, en los primeros estadios fenológicos del arroz. Los apicultores existentes son pequeños productores agropecuarios muy diversificados, que realizan la actividad apícola como complemento.

Bazzurro y Gamba (comunicación verbal, 1995), indican que de acuerdo al censo general agropecuario de 1990, tanto el número de apicultores (diez) como el número de colmenas (veinte) es sumamente baja en la zona. Para estos productores la apicultura es una actividad complementaria y su producción es comercializada en forma artesanal en la propia zona.

2.3- PALINOLOGIA

2.3.1- Definición y antecedentes

Louveaux (1970), define a la Palinología como la ciencia que tiene por objeto el estudio del polen. En 1952, Erdtman define Palinología como la ciencia del polen y las esporas que trata de las paredes de dichas células y no de su interior vivo.

A fines del S.XIX Langerhein (1901) y Weber (1918), citado por Sáenz de Rivas (1978), identificaron el polen que se hallaba en las turberas mediante análisis polínico. Luego Erdtman basado en los criterios de Von Post, desarrolló el análisis polínico de sedimentos y realizó estudios sobre la morfología del grano de polen.

Según Baño Breis (1994), el estudio del polen comienza a adquirir importancia en los trabajos de Wodehouse en 1935 y Erdtman en 1942. Estos estudios luego se ampliaron a distintos ámbitos como por ejemplo el botánico, el arqueológico, el geológico, etc.

2.3.2- Morfología del grano de polen.

2.3.2.1-Generalidades

Según Jean-Prost (1985), el polen es el elemento fecundante masculino de las plantas con flores y se presenta bajo pequeños granos microscópicos que se hallan contenidos en las anteras. En casos de plantas de polinización entomófila, es transportado por los insectos, entre ellos las abejas, las cuales lo llevan adherido al cuerpo o en polinias hasta la colmena.

El polen constituye la fuente alimenticia proteica de las abejas (11-35 % de proteína), de gran importancia para el desarrollo de la colonia. La miel sólo contiene un 0,2% de proteínas.

Para definir la morfología de un grano de polen se deben considerar cuatro puntos importantes: polaridad, tamaño, forma y características de las aperturas. Éstos son definidos por distintos parámetros que serán posteriormente considerados.

2.3.2.2-Polaridad

Los granos de polen se forman a partir de sucesivas divisiones mitóticas de la espora madre generándose tétradas. Los granos de polen son haploides y al madurar se separan o permanecen unidos en tétradas, diadas o políadas.

Si consideramos la tétrada y el grano de polen como objetos tridimensionales que ocupan un volumen en el espacio es que podemos definir la polaridad. La polaridad está dada por la presencia de un eje polar, un polo proximal, un polo distal, un ecuador y meridianos.

De acuerdo a la polaridad los granos de polen pueden ser: *apolares*, *cryptopolares* o *polares*.

La simetría de un grano de polen está determinada por la existencia de planos de simetría; de acuerdo a la presencia o no de ellos, los granos pueden ser simétricos o asimétricos.

2.3.2.3-Forma

Los granos de polen tienen diversas formas. La misma puede variar por distintos tratamientos previos como embebidos, fosilización artificial o natural, etc.

La forma de un grano de polen se define en función de la vista polar y de la vista ecuatorial. En vista polar la mayoría de los granos son circulares, triangulares, subtriangulares o de forma más compleja. En vista ecuatorial, se distinguen los granos que son más anchos que largos (prolato), y aquellos que son más largos que anchos (oblatos)

Erdtman (1969) citado por Sáenz de Rivas (1978), clasificó las posibles formas en vista ecuatorial de los granos previamente acetolizados como sigue:

<i>Clases de forma</i>	<i>P/E</i>
Peroblato	0,5
●blato	0,5-0,7
Suboblato	0,7-0,8
Oblato esférico	0,8-1
Esférico	1
Problato esférico	1-1,1
Subproblato	1,1-1,3
Problato	1,3-2
Perproblato	2

P=Eje polar

E=Eje ecuatorial

La relación P/E se establece por una línea que marca el ancho total del grano en vista ecuatorial

Según Sáenz de Rivas (1978), las formas que pueden presentar los granos de polen en vista polar, están definidas por el contorno y la posición de las aperturas.

Para la clasificación por forma del grano de polen de *Butia capitata*, se utilizó el criterio de clasificación de Erdtman (1969).

2.3.2.4-Tamaño

Para determinar el tamaño de un grano de polen se miden el ancho y las longitudes de los ejes polar y ecuatorial. La forma como se toman las medidas depende de la simetría del grano de polen.

Al medir longitud y ancho no se incluye toda aquella escultura de la exina mayor a 0,5 micras de longitud .

Según Sáenz de Rivas (1978), el tamaño es un buen carácter taxonómico ya que permanece constante dentro de la misma especie; se halla muy ligado al número cromosómico de la especie y de ahí que los poliploides sean de mayor tamaño.

2.3.2.4.1- Clasificación de tamaño

Como forma de unificar criterios debido a la gran heterogeneidad existente entre especies, Erdtman (1945c) citado por Erdtman (1952), propuso las siguientes clases de tamaños:

esporas muy pequeñas	<10 μ
esporas pequeñas	10-25 μ
esporas tamaño medio	25-50 μ
esporas grandes	50-100 μ
esporas muy grandes	100-200 μ
esporas gigantes	>200 μ

Stanley y Linskens (1974), recomiendan que para determinar el tamaño de un grano de polen se debe tener en cuenta si el mismo ha sido afectado por tratamientos químicos. Para comparar granos de igual tamaño se debe realizar bajo condiciones idénticas.

De acuerdo a Sáenz de Rivas es aconsejable tomar las medidas sobre granos acetolizados observados al microscopio óptico.

Como ejemplos de extremos de tamaño se conocen hasta hoy, el grano de polen de la planta *Nomeolvides* (familia *Borraginaceae*), tiene un tamaño de 5μ y el grano de polen de *Calabacín* (familia *Cucurbitaceae*) es de 250 μ .

De acuerdo con Stanley y Linskens (1974), existen diferencias de tamaño de grano de polen, según la forma de dispersión que tenga o sea si es dispersado por viento, agua, animales o insectos.

Wodehouse (1935) citado por Stanley y Linskens (1974), encontró que la mayoría de las plantas anemófilas tienen granos de polen con un rango de tamaño de 17 a 58μ , mientras las plantas zoófilas y entomófilas presentan granos de mayor tamaño.

2.3.2.4.2-Variación de tamaño

Según Stanley y Linskens (1974), existe una variedad de factores que afectan el tamaño del grano de polen, los cuales se clasifican en factores internos y externos.

Los factores internos son los más constantes ya que se refieren principalmente al número cromosómico de la especie y características de floración.

Los factores externos están referidos principalmente a condiciones climáticas que afectan las características externas del grano de polen. Las características más afectadas son diámetro y volumen del mismo.

2.3.2.5-Aperturas

Apertura es la amplitud de la abertura. Según Carretero (1989), la abertura es el o los orificios bien delimitados que se hallan sobre la superficie del grano de polen y a través del cual sale el protoplasma celular. Sáenz de Rivas (1978), la define como cualquier adelgazamiento o rotura de la superficie de una espora o grano de polen que permita la salida del protoplasma de la célula.

Wodehouse (1935) citado por Sáenz de Rivas (1978), descubrió que las aperturas tienen dos funciones, una es permitir la salida del tubo polínico durante la germinación del grano, y la otra es harmomégata, o sea que permite cambios del grano de polen como consecuencia de cambios de volumen debidos a la humedad ambiental. En base a tales funciones se diferencian dos tipos de aperturas, las germinales, que presentan debajo de la apertura de exina un engrosamiento de la intina, y las pseudoaperturas, que tienen la función harmomégata.

Erdtman (1952), clasifica las aperturas considerando los siguientes parámetros: posición, forma, estructura, tamaño y número.

A) Posición y forma

Las posiciones que tienen generalmente las aperturas en los granos de polen son: polar, global o ecuatorial.

Dentro de las aperturas polares algunas de las formas encontradas son colpo, poro, úlcera y laesura.

Colpo y poro son las aperturas halladas más frecuentemente en los pólenes, por ello serán las descriptas.

Se denomina poro, cuando la apertura es polar y redondeada. Sáenz de Rivas (1978), la define como el lugar por donde sale el tubo polínico durante la germinación del grano de polen.

Colpo es una apertura polar de forma alargada, donde el largo es el doble del ancho.

Según Carretero (1989), colpo es sinónimo de surco. Puede ubicarse en sentido meridional o ecuatorial.

B) Estructura

La estructura son las distintas formas que puede tener la apertura, sirve para definir la escultura del grano de polen, clasificarlo e identificarlo.

Según Erdtman (1952), la apertura puede ser de ectexina o de endexina, denominándose así ectoapertura o endoapertura respectivamente. Según Sáenz de Rivas (1978), las estructuras de las aperturas pueden ser simples (colpo y poro) o compuestas (colporo).

Aperturas simples son aquellas formadas por una sucesión de agujeros más o menos congruentes en las distintas capas de la pared del grano.

Las aperturas compuestas pueden tomar distintas formas: circulares, lolongadas (longitudinalmente elongadas), o lalongadas (transversalmente elongadas).

Algunas aperturas son una excepción a la definición ya que en vez de áreas adelgazadas son áreas engrosadas que constituyen opérculos como en el caso del polen de gramíneas .

2.3.3-Estructura general del grano de polen

Según Erdtman (1952), el grano de polen se halla rodeado por una pared llamada esporodermis, la cual se halla constituida básicamente por dos capas: una externa de consistencia dura llamada Exina; y otra interna de consistencia blanda llamada Intina.

2.3.3.1-Exina

Según Sáenz de Rivas (1978), la exina es la capa externa de la esporodermis del grano de polen y la más resistente tanto a la acción de ácidos y bases concentradas como a calentamiento de hasta 300°C. Tal resistencia se debe a que se halla constituida por una sustancia química considerada la más resistente dentro del mundo vegetal, la esporopolenina. Debido a estas características dicha capa es la más importante al momento de clasificar un grano de polen.

2.3.3.2-Intina

De acuerdo a Fritzsche (1837) citado por Sáenz de Rivas (1978), la intina es la capa más interna de la esporodermis del grano de polen, generalmente poco resistente por su naturaleza celulósica. Brinda protección al grano de polen frente a factores externos tanto químicos (oxidación especialmente) como físicos (deshidratación, etc.).

Bajo microscopio electrónico se ha observado que la intina presenta microfibrillas de celulosa por lo que es fácilmente destruida por ácidos y bases concentradas. Se halla en contacto directo con la célula polínica y su principal componente es la celulosa. En el caso de pólenes que presentan sacos aéreos y en las zonas de los poros germinales, esta capa no se halla adherida a la exina. Su espesor es variable con las especies, es gruesa en las especies de las familias *Compositae*, *Cucurbitaceae*, *Passiflorae*, etc. y delgada en *Mirabilis*, *Agrostemma*, etc.

2.3.4-Escultura

Consiste en el relieve que presenta la parte externa del grano de polen. Está dada por la forma, dimensiones y disposición de los distintos elementos esculturales sobre la exina.

Según Sáenz de Rivas (1978), cuando el polen está provisto de tectum, la estructura es la forma en que se disponen los estratos bajo el tectum. En el caso de granos semi e intactados la estructura coincide con la escultura.

Louveaux (1970), indica que la observación de las figuras geométricas formadas por los elementos de la exina, constituyen un buen indicador para la identificación de pólenes.

2.3.4.1-Tipos de escultura

Según Louveaux (1970), los tipos de escultura son los siguientes:

- Foveolada*: cuando la superficie está cubierta de pequeñas depresiones aisladas.
- Estriada*: los elementos esculturales se hallan dispuestos más o menos paralelos
- Punctada*: aquella que presenta un tegillum con perforaciones pequeñas llamadas puncta.
- Baculada*: aquella donde los elementos esculturales son más altos que anchos y tienen forma de bastón

-*Equinada*: cuando la superficie está cubierta por los elementos esculturales llamadas espinas.

-*Reticulada*: cuando los elementos esculturales forman mallas o retículos.

Sáenz de Rivas (1978), considera sólo cuatro tipos de escultura: reticulada, estriada, rugulada, insulada; siendo rugulada cuando los elementos se disponen en forma irregular sobre la superficie del grano, e insulada cuando se disponen en pequeños islotes.

2.3.4.2-Elementos esculturales

Son prolongaciones de la exina que toman diferentes formas y determinan distintos relieves que facilitan la clasificación e identificación de los granos de polen.

Según Faegri-Iversen (1975) citados por Sáenz de Rivas (1978), los elementos esculturales son: *espinula*, *báculo*, *verruga*, *gema*, *pilo*, *clava* y *gránulo*.

Espina es un elemento cuya altura es mayor que el ancho, si es menor a $3\mu\text{m}$ y de forma puntiaguda se denomina espínula. El resto de elementos no son puntiagudos.

Báculo es un elemento cuya altura es mayor al ancho y con forma de bastón.

Verruga tiene ancho mayor a la altura, con base no constreñida.

Gema tiene un ancho mayor a la altura y base constreñida.

Pilo se caracteriza por tener una altura mayor que el ancho y forma de clavo.

Clava es más alto que ancho pero tiene forma de maza.

Gránulo es un elemento isodiamétrico.

2.3.5-Técnicas de estudio

Según Sáenz de Rivas (1978), estas técnicas se basan en la utilización de polen seco procedente de herbario o polen fresco directo de la planta y el posterior tratamiento o no, para su estudio.

Reitsma (1969), señala que dentro de las técnicas de estudio del polen se hallan aquellas que se basan en el tratamiento químico y las que se basan en tratamiento no químico.

El tratamiento químico permite mejorar la nitidez de la observación de la estructura y escultura del grano de polen, a través de la eliminación de toda la parte celulósica o viva del grano.

Dentro de las técnicas que utilizan el tratamiento químico como principio, podemos citar el método del Hidróxido de Potasio de Von Post de 1933, y el método de acetólisis de Erdtman de 1969.

Entre las técnicas sin tratamiento químico se encuentra el método de gelatina glicerizada.

El método de acetólisis se utiliza tanto para elaborar patrones de polen como para analizar el sedimento polínico de los néctares. Fue introducido por Erdtman y Erdtman (1933) y Erdtman (1934), luego fue revisado por el mismo en 1960 y 1969.

Para la observación tanto de estructura como de escultura del grano de polen se pueden utilizar diferentes tipos de microscopía, entre ellas microscopía electrónica de barrido, microscopía electrónica de transmisión y microscopía óptica.

Según Erdtman (1952), dentro de la microscopía óptica se puede utilizar el análisis luz-oscuridad. Este análisis es un método que permite reconstruir la esporodermis del grano de polen, en función de las luces y las sombras generadas en la superficie del mismo por cambios en el condensador del microscopio, con distintos aumentos y con movimientos de los tornillos macro y micrométricos durante la observación .

2.3.6-Melisopalinología

2.3.6.1-Definición

Sáenz de Rivas (1978), define la Melisopalinología como la rama de la Palinología que se encarga del estudio del polen transportado por las abejas.

Su principal aplicación es determinar el origen botánico y/o geográfico de la miel a través de la identificación de los granos de polen presentes en ella. Además, ofrece conocimientos importantes sobre comportamiento ecológico y biológico de la abeja.

2.3.6.2-Antecedentes nacionales e internacionales

A nivel internacional, Pfister en 1875 citado por Lemarquant Mulet (1982), investigó microscópicamente la miel para determinar la procedencia geográfica y botánica de la misma. En 1970, Pourtallier y Taliercio estudiaron las características fisico-químicas de las mieles en función de su origen floral.

Destacados autores como Zander en 1935, Erdtman en 1948 y 1952, Louveaux en 1968, Maurizio en 1949 y otros, han realizado grandes aportes a esta ciencia. Louveaux, Maurizio y Demianovick, han desarrollado distintos métodos para el análisis polínico de las mieles.

Louveaux (1968) citado por Lemarquant Mulet (1982), señala que la base científica de los métodos utilizados está dada por la Palinología, la biología floral y la biología de las abejas.

A nivel nacional, la investigación en melisopalinología se reduce a pocos trabajos hasta el momento.

Fernández y Burgues (1943), publicaron el trabajo titulado "Importancia del polen en la determinación del origen de las mieles", donde sólo reconocieron diferentes tipos polínicos.

Lemarquant Mulet (1982), realizó el trabajo "Origen botánico de la miel" donde reconoció distintos tipos polínicos, con el objetivo de determinar el origen botánico de las mieles en el apiario de la Facultad de Agronomía (Montevideo), y en un apiario de la localidad Caballero (Durazno). Además modificó diferentes técnicas para dicha determinación.

En 1992, por iniciativa del sector miel de CALFORU y del PENTA, (Programa de Promoción de Exportaciones no Tradicionales Agropecuarias) del MGAP, se llevó a cabo un curso sobre orígenes de mieles para técnicos de distintas cooperativas, el que estuvo a cargo del Licenciado español Antonio Gómez Pajuelo. La Central Apícola elaboró el proyecto "Determinación del Origen Botánico de las Mieleles", en el cual participan el LATU, PENTA e IES (Instituto de Estudios Sociales).

En 1994 se desarrolló un proyecto denominado "Tipificación de miel de palma en la zona Norte del departamento de Rocha" por Facultad de Agronomía en convenio con PROBIDES. En dicho trabajo se realizaron análisis cualitativos, cuantitativos y fisico-químicos de las mieles, con el fin de obtener información para una posible y posterior tipificación de miel de palma. De dicho estudio se obtuvieron mieles con alto porcentaje de polen de *Butia capitata* (90 %). Esto se logró a fines de noviembre únicamente y en forma muy puntual. Según los análisis fisico-químicos realizados, las mieles con porcentajes elevados de polen de palma presentan coloraciones claras, ámbar extra claro-ámbar claro y porcentajes de sacarosa en torno del 4 %.

En 1996 se presentaron varios trabajos de investigación en melisopalinología en el Congreso Iberoamericano de Apicultura realizado en Mercedes (Dpto. de Soriano). Daners en base al análisis microscópico cuali y cuantitativo del contenido polínico de 112 muestras de miel provenientes de distintas zonas del país, elaboró un listado de la flora apícola más importante en Uruguay.

Campá y Daners (Congreso Iberoamericano de Apicultura, 1996) caracterizaron palinológicamente mieles de *Scutia buxifolia* (Coronilla), siendo este uno de los pasos para lograr la tipificación botánica de dicha miel.

2.3.6.3-Métodos de análisis de mieles

La miel, según el Reglamento Técnico MERCOSUR de Identidad y Calidad de la miel (1995), es el producto alimenticio elaborado por las abejas melíferas, a partir del néctar de las flores o de las secreciones procedentes de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de plantas, que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan y dejan madurar en los panales de la colmena.

Según el Codex Alimentarius (1969) citado por Louveaux (1970), la miel es la sustancia azucarada producida por las abejas melíferas a partir del néctar de flores o secreciones provenientes de partes vivientes de plantas, transformadas y combinadas con las materias específicas de la colmena. El néctar es definido por Jean Prost (1985), como la sustancia azucarada proveniente de la savia elaborada y exudada por los nectarios al exterior. Es uno de los principales atractivos para los insectos.

Ersikowitch (1978) citado por Lemarquand Mulet (1982), indica que el uso de néctar o no por parte de la abeja, está condicionado a factores climáticos y edáficos imperantes en el momento de la floración. Además, la estructura de la flor hace muchas veces al néctar inaccesible para las abejas. La concentración del néctar debe ser superior al 20% expresada en sólidos solubles para que sea aprovechable por las abejas. Esta concentración varía de acuerdo a la constitución genética de la planta, edad de la flor, hora del día y factores ambientales tales como temperatura, humedad ambiental, velocidad del viento y altitud.

De acuerdo al reglamento técnico MERCOSUR de identidad y calidad de la miel (1995), las mieles se pueden extraer por distintos procedimientos, de las cuales se obtienen:

-*mieles escurridas*, son aquellas obtenidas por escurrimiento de panales desoperculados, sin larvas.

-*mieles prensadas*, son aquellas obtenidas por prensado de panales, sin larvas.

-*mieles centrifugadas*, son aquellas obtenidas por centrifugación de panales desoperculados sin larvas.

-*mieles filtradas*, son aquellas que han sido sometidas a un proceso de filtrado sin alterar su valor nutritivo.

Según Maurizio, Louveaux (1965), Louveaux (1968) y Louveaux et al. (1970 y 1978) citado por Carretero (1989), se pueden realizar dos tipos de análisis polínico en una miel .

A) Análisis microscópico cualitativo

De acuerdo a Sáenz de Rivas (1978), este tipo de análisis indica que especies vegetales y en que proporción se encuentran en determinado tipo de miel. Carretero (1989), indica que este análisis permite determinar el espectro polínico de una miel.

Louveaux et al. (1978), indican que el análisis cualitativo se basa en la concentración de los elementos microscópicos mediante centrifugado de mieles disueltas en agua. Luego se somete el sedimento a tratamiento químico o no. Posteriormente bajo microscopio, se analiza y evalúa a través de comparaciones con material de referencia de la región geográfica en estudio.

Este análisis puede ser completo u orientado. Orientado es aquel donde se identifican las partículas presentes más frecuentes y elementos característicos con cierta significancia en el sedimento.

Análisis completo implica la identificación de todos los granos de polen y otros constituyentes microscópicos en el sedimento .

La observación del material sin acetolizar depende del tipo de análisis a realizar (completo u orientado), ya que la acetólisis destruye hifas de hongos, levaduras, algas, algunas paredes delgadas del grano de polen y otras partículas que pueden ser útiles al evaluar mieles.

Se distinguen tres grados de exactitud en el conteo de elementos microscópicos en el sedimento: "estimación" contando 100 granos de polen, "determinación de frecuencia" de clases contando 200-300 granos y "conteo expresado en porcentaje" contando 1200 granos de polen, en dos preparaciones independientes de la misma miel.

Según Maurizio y Louveaux (1967) citado por Louveaux et al (1978), en la expresión de los resultados del análisis cualitativo muy pocas veces se puede llegar a identificar los granos de polen por género y especie. La mayoría de las veces los pólenes se logran identificar y clasificar por familia. De no ser necesario el conocimiento detallado, los pólenes se pueden asociar en grandes grupos (formas o tipos) por ej: *Labiatae*, *Borraginaceae*.

De acuerdo a Louveaux et al. (1978), el resultado expresado por estimación de frecuencias, indica que los granos de polen en miel son:

- muy frecuentes cuando se hallan en más del 45% del total
- frecuentes cuando se hallan entre 16-45% del total
- raros cuando se hallan entre 3-15% del total
- esporádicos cuando se hallan en cantidades menores del 3% del total.

Cuando los resultados se expresan en frecuencia de clases, los pólenes pueden ser:

- predominantes: si son más del 45% de los granos contados
- secundarios: si son entre 16-45% de los granos contados
- pólenes de menor importancia : si son entre 3-15% de los granos contados
- pólenes menores: si son menos del 3% de los granos contados

Cuando se cuentan 1200 o más granos de polen, los resultados se pueden expresar en porcentaje con 1% de exactitud.

Louveaux et al (1978), señalan que el espectro polínico de una miel depende de las condiciones de flora, agricultura y forestación en la cual es producida.

B) Análisis microscópico cuantitativo

Este análisis permite determinar el volumen del sedimento de la miel y/o el número de granos de polen por unidad de peso.

Lemarquant Mulet (1982); indica que a través de este tipo de análisis se puede inferir sobre las condiciones bajo las cuales se realizó la extracción de miel.

Louveaux et al. (1978), indican que el principio de este análisis es centrifugar una solución de miel para obtener un material insoluble en agua llamado sedimento, el cual es medido en tubos de centrifuga calibrada. Se analiza el sedimento para determinar el número absoluto de granos de polen en una determinada cantidad de miel.

La aplicación de este principio se puede realizar por diferentes métodos:

- método de Maurizio
- método de Demianowicz
- método de Louveaux
- método de Cámara de Neubauer

El método de Maurizio se basa en la concentración del sedimento de una cantidad dada de miel y luego diluida en un volumen de agua conocido. Luego se extiende un volumen conocido de la dilución sobre un portaobjeto, en un área circunscripta de 1cm^2 . Se cuentan al microscopio óptico los elementos microscópicos y se calcula el número de elementos por unidad de peso.

El método de Demianowicz tiene el mismo principio que el método de Maurizio.

El método de Louveaux se basa en la separación del sedimento de una cantidad (g) conocida de miel, luego ésta es dispersada con agua. Posteriormente se filtra la solución con un filtro que tiene un área superficial conocida y cuyos poros tienen un diámetro menor al de las partículas a ser contadas. Se cuentan los elementos retenidos sobre el filtro bajo microscopio. Se calcula el número de partículas por unidad de peso, por el número de campos visuales y el área de cada uno .

El método de la Cámara de Neubauer, es un método directo de determinación del número de microorganismos en microbiología. Permite el recuento total, que consiste en determinar el número de individuos presentes en un volumen pequeño de muestra líquida mediante la observación microscópica. La cámara posee un cuadro grande dividido en 25 cuadros medianos, los que a su vez están divididos en 16 pequeños. El área del cuadrado pequeño es igual a $0,0025 \text{ mm}^2$ y la altura es igual a $0,1 \text{ mm}$.

Según Louveaux et al. (1978), los resultados del análisis cuantitativo permiten clasificar las mieles en alguno de estos grupos:

- Clase I* <20.000 granos por cada 10 g de miel (mieles uniflorales).
- Clase II* 20.000-100.000 granos por cada 10g de miel
(mieles florales y de mielada).
- Clase III* entre 100.000-500.000 granos por cada 10g de miel
(mieles de mielada o mieles muy ricas en polen).
- Clase IV* entre 500.000-1.000.000 granos por cada 10g de miel
(mieles florales extremadamente ricas en polen y mieles prensadas).
- Clase V* >1.000.000 granos por cada 10g de miel
(mieles prensadas ricas en polen).

2.3.6.4-Distribución de Frecuencias

Los resultados de los estudios polínicos de las mieles normalmente se expresan como distribuciones de frecuencias; las que nos brindan información sobre el espectro polínico de la miel. Es un resultado que conjuga los datos cualitativos y cuantitativos obtenidos del análisis de los sedimentos polínicos de las mieles.

2.4.- PALMACEAS.

2.4.1-Familia Palmae

2.4.1.1-Generalidades

Arbo (1974), indica que la familia Palmae está compuesta por aproximadamente 236 géneros y 3400 especies que viven en zonas tropicales y subtropicales.

Según Potztl citado por Arbo (1974), esta familia comprende 9 subfamilias: *Arecoideae*, *Cocosoideae*, *Nypoideae*, *Borassoideae*, *Lepidocaryoideae*, *Coryphoideae*, *Phoenicoideae*, *Caryotoideae* y *Phytelephantoideae*.

Tomlinson (1990), clasificó las palmas en 6 subfamilias: *Arecoideae*, *Calamoideae*, *Ceroxyloideae*, *Coryphoideae*, *Nyphoideae* y *Phytelephantoideae*.

A) Caracterización botánica de las palmas

Según Tomlinson (1990), las palmas son plantas con troncos típicamente leñosos, sus raíces nunca son trepadoras. Cuando el tronco presenta ramificaciones, generalmente son basales, nunca distales.

Presentan un alto número de hojas (20, 30 o más); la hoja basal abre dentro de una vaina tubular en forma de espada muy desarrollada, con largo o corto pecíolo y un sólo raquis.

Las plantas son dioicas o monoicas generalmente pero existen palmas nativas hermafroditas. La inflorescencia es lateral o una rama de 5^{to} orden en el caso de inflorescencias terminales, generalmente es muy ramificada con una espata basal, y una o más brácteas basales aumentadas y las distales reducidas. El eje es raramente ramificado y toma el nombre de espádice. Una única bráctea inflada envolvente llamada espata, a veces leñosa, protege la inflorescencia. Las flores son algunas veces perfectas pero generalmente unisexuales, se hallan solitarias o agrupadas generalmente en pares, ternos o más sobre el eje; presentando una sola bracteola trímera. La distribución de las flores es diversa, la disposición más común es en pares. Generalmente hay gran diferencia de tamaño entre flores masculinas y femeninas. Las flores raramente funcionan como entidades individuales, sino que es la inflorescencia la unidad funcional.

La flor tiene tres, seis o más estambres, el gineceo es súpero, el ovario tiene uno a tres carpelos o más, presenta tres o más lóculos cada uno con un óvulo funcional, dos lóculos y sus óvulos comúnmente abortan. Cuando los nectarios están presentes en las palmas son generalmente septales y se hallan encerrados. Ellos revisten el interior de la cavidad basal que resulta de la incompleta fusión de los carpelos. Los nectarios han sido encontrados en *Arenga*, *Asterogyne*, *Borassus*, *Butia*, *Calyptrocalyx*, *Cocos*, *Corypha*, *Geonomam*, *Hyophorbe*, *Hyphaene*, *Latania*, *Phychosperma* y *Sabal*.

La localización de los nectarios puede ser basal o distal. Tanto flores unisexuales masculinas como femeninas pueden segregar néctar; en las flores masculinas toman importancia los pistiloides como estructuras funcionales más que vestigiales. Las flores masculinas tienen numerosos estambres y un pistiloide, mientras las femeninas presentan un ovario tricarpelar con dos carpelos abortados. Tanto el pistiloide como el gineceo tienen nectarios septales.

El fruto es generalmente indehisciente, es una drupa con una a tres semillas o más, el pericarpio es leñoso, carnoso o fibroso, el endocarpio puede ser grueso y leñoso.

La semilla tiene endosperma abundante, embrión pequeño y es de germinación hipógea.

El tallo presenta un haz vascular simple, colateral con uno, dos o más extensos vasos metaxilemáticos.

B) Caracterización del polen de las palmeras

Thanikaimoni (1970), indica que existen 27 tipos de granos de polen en la familia *Palmae*, al estudiar 800 especies y 193 géneros de la misma.

Thanikaimoni (1970), Harley (1990) y Sowunmi (1968) coinciden en que el tipo de apertura más frecuente en granos de polen de palmera es monocolpada y algunas veces aparece la tricotomocolpada.

Sowunmi (1968), indica que cuando la apertura es un colpo, éste se halla cubierto por una fina membrana o raramente por un opérculo.

Según Arbo (1974), la apertura se halla en el polo distal del grano de polen ya que estos son heteropolares.

Existen además otros tipos de aperturas menos frecuentes como tricotomocolpada que ocurre principalmente en la subfamilia *Coccoideae*; monoporada, diporada, anulocolpada y dicolpada.

Harley (1990), indica que en todas las subfamilias de *Palmae* el polen se caracteriza por ser simple, tectado y monosulcado excepto en la subfamilia *Nypoideae*.

El grano de polen puede ser no esculpado o finamente esculpado con exina perforada generalmente.

De acuerdo a Sowunmi (1968), dentro de los pólenes existe una gran variedad de patrones de exina (punctada, reticulada, negativamente reticulada, vermiculada, verrugosa, pilada, clavada, espinosa, verrugosa-reticulada, clavada-punctada) aunque el más predominante es el tipo reticulada. Thanikaimoni (1970) como Arbo (1974), sostienen que el polen de las palmeras no presenta endexina.

Según Sowunmi (1968), existe un extenso rango de tamaños en los granos de polen de la familia *Palmae*, midiendo el diámetro ecuatorial entre 20 y 75 μ . La forma de los granos en vista polar es frecuentemente elíptica y algunas veces circular-triangular o circular.

Arbo (1974), estudió la morfología del polen de las once especies de palmas que existen en Argentina, utilizando microscopios óptico y electrónico de barrido; observó un gran polimorfismo polínico al igual que Sowunmi (1968).

2.4.1.2- Actividad apícola

De acuerdo a Tomlinson (1990), existía la teoría de que las palmas tenían polinización exclusivamente anemófila por tener flores pequeñas poco accesibles a insectos. Hoy las observaciones muestran que existe una diversidad de palmas que se polinizan a través de distintos animales que frecuentan las flores, entre ellos los insectos como la abeja.

La polinización entomófila en palmas está en parte a cargo de las abejas pecoreadoras que comúnmente visitan las inflorescencias de palmas en busca de polen y néctar.

La inflorescencia es expuesta por un extenso período desde la temprana caída de las brácteas y es protegida por un extenso perianto imbricado que tiene un número grande de fibras y haces fibrovasculares.

Las inflorescencias tienen flores masculinas que abren por un período mínimo de dos semanas mientras las flores femeninas abren sólo luego de que todas las flores masculinas se hallan cerrado y puedan ser receptivas por más de dos días. Los estigmas trilobados, exudan néctar desde los nectarios septales justo por debajo de ellas.

2.4.2- Género Butia

2.4.2.1- Generalidades

Mc. Currach (1970), caracteriza este género como plantas generalmente monoicas. Las palmas son erectas con tronco único generalmente de estatura media a baja, con troncos aparentemente débiles.

Es un género que originalmente segregó de una gran variedad del género *Cocos*. Las especies son muy robustas, el tamaño de las palmas es mediano a pequeño, son distinguidas por sus pecíolos encorvados que se arquean muy agudamente. Los extremos de sus hojas algunas veces tocan el tronco. El follaje es verde grisáceo, y se halla bien sostenido en la parte más arriba del tronco. Sus largos racimos de frutos anaranjados pueden pesar más de 34 kg.

Falta mucho por estudiar ya que existe una gran variación intra específica.

2.4.2.2- *Butia capitata*

2.4.2.2.1- Generalidades

Según Chebataroff (1974), en Uruguay existen cinco especies de palmas nativas que crecen en forma espontánea: *Arecastrum romanzoffianum* (Pindó), *Butia yatay* (Yatay), *Butia capitata* (Butiá), *Butia paraguayensis* (Yatay poñi) y *Trithrinax campestris* (Caranday). Estas cinco especies ocupan distintas áreas que están determinadas en cierta parte por un conjunto de factores como son el microclima, las características edáficas (textura, humedad, pH del suelo, etc.) y las condiciones biológicas de cada especie.

De las especies citadas, las únicas que forman asociaciones vegetales o palmares son *Butia yatay* y *Butia capitata*.

La palma *Butia capitata* forma un extenso palmar que se extiende desde Río Grande do Sul en Brasil hasta la zona este del Uruguay. Según PROBIDES (1994) en nuestro país ocupa un área de aproximadamente 70.000 há., sobre los departamentos de Rocha (Castillos, San Miguel, 19 de Abril) y Treinta y Tres (La Charqueada, Cebollati). Esta especie tiene muchas variedades entre ellas *Nehrlingiana*, *Pulposa*, *Odorata*, *Strictior*, *Vitescens*.

Según Castellanos Ragonese (1949) y Chebataroff (1971), la variedad en estudio es *Odorata*.

Según Chebataroff (1971), en el territorio nacional se desarrolla principalmente sobre suelos bajos y anegadizos con bajo pH (Planosoles), donde generalmente existe una gran actividad agrícola debido al cultivo de arroz. También crece sobre llanuras húmedas; junto a arroyos y sierras suele mezclarse con el monte indígena pero sólo un reducido número de individuos.

Cuando se halla sobre planosoles está asociada a una vegetación típica de bañado acompañada por ej: *Panicum prionitis* (pajonales), *Pontederia sp.* (camalotes), etc.

Se calcula que la edad de las palmas *Butia capitata* oscila entre 200-300 años.

2.4.2.2.2- Importancia de su estudio

El palmar de *Butia capitata* se extiende en la zona de los Humedales del Este. Éstos han sido designados como Reserva de Biósfera del Programa MAB (1976) y sitio Ramsar (1982).

El Programa de Conservación de la Biodiversidad y Desarrollo Sustentable en los Humedales del Este (PROBIDES), es una de las instituciones que está desarrollando propuestas que permiten conservar los recursos naturales del área, entre ellos el palmar.

Dada la diversidad de flora existente, la avidez con que la abeja trabaja la especie y el largo período de floración de la palma, se consideró importante estudiar la posibilidad de producir miel y polen tipificados botánicamente en la zona de los palmares. La actividad apícola en la zona, gracias a la diversidad de la flora existente, ofrece un gran potencial apícola y además, puede permitir un desarrollo sustentable de toda la comunidad biótica de los humedales.

Todo esto podría permitir obtener en un futuro cercano la producción y tipificación de la miel de palma y un desarrollo de la actividad apícola que genere nuevas fuentes de trabajo y mejoras en la calidad de vida de la población.

2.4.2.2.3- Descripción botánica

Clasificación taxonómica de la palma *Butia capitata*

División:	Angiosperma
Clase:	Monocotiledoneae
Orden:	Principes
Familia:	Palmae
Subfamilia:	Arecoideae
Tribu:	Cocoeae
Subtribu:	Butiinae
Género:	Butia
Epíteto específico	capitata
Variedad:	Odorata

Castellanos-Ragonese. (1949); Chebataroff. (1971) y Tomlinson. (1990).

Según Castellanos-Ragonese (1949), la especie es heliófila gregaria, de crecimiento muy lento, que sólo prospera aislada o en comunidades formadas por poblaciones puras.

Según Chebataroff (1971), el follaje es de color verde ceniciento con segmentos rígidos y pecíolo foliar, con mayor persistencia que en *Butia yatay*. Las hojas tienen una longitud de 2-3m de largo de tipo pinnaticompuestas, el eje central se llama raquis y es curvo, las pinnas son rígidas y simétricas a ambos lados. Se distingue de la palma *Butia yatay* por tener menor altura, el tronco o estípote en promedio mide 5-7m de altura y 40-50cm de diámetro.

Según PROBIDES (1994), cada palma tiene aproximadamente veinticinco hojas de las que se estima que renueva cerca de catorce cada año.

Sobre el raquis de una rama fructífera se desarrolla la inflorescencia tipo espádice ramificado, que se halla protegido por una espata leñosa lisa. Según Bailey (1936), la inflorescencia presenta tanto flores femeninas como flores masculinas, en la parte más alta del raquis se hallan sólo flores masculinas, en la parte central se hallan en ternos formados por una flor femenina y dos flores masculinas adyacentes, y en la parte más baja sólo flores femeninas. Por estas características es una planta monoica.

Las flores femeninas están formadas por pétalos, sépalos, un pistilo glabro, tres estigmas y tres lóculos. Los lóculos tienen forma globosa-globosa ovoide y miden 3 a 16mm de largo y 3 a 10mm de diámetro. Los pétalos y los sépalos son de longitud similar.

Las flores masculinas están compuestas por tres sépalos, siendo uno de ellos de mayor tamaño, tres pétalos, seis estambres con anteras lineales de dehiscencia longitudinal y versátiles, un estigma y un pistiloide sobre la base del cual se hallan los nectarios.

El ovario es súpero y trilocular, teniendo un endosperma homogéneo.

El fruto se caracteriza por ser una drupa ovoide, subglobosa más o menos deprimida en el punto de inserción, con una gama de colores que va desde amarillo-amarillo naranja hasta rojizo. El perianto cubre menos de un tercio del fruto y tiene endocarpio carnoso.

2.4.2.2.4- Caracterización del grano de polen

Según Kedves (1980), los granos de polen de *Butia capitata* son monosulcados, tienen exina tectada, imperforada, superficie lisa. El espesor de la exina es de $1,5\mu$ y las capas (téctum, infratéctum y nexina) son de idéntico espesor. La estructura del grano es intrabaculada. El grano presenta un eje longitudinal que mide entre 36 y 42μ .

2.4.2.2.5- Antecedentes palinológicos y melisopalinológicos en *Butia capitata*

Los únicos antecedentes de estudios palinológicos encontrados para este trabajo sobre *Butia capitata* son los trabajos de Kedves (1980) sobre investigación morfológica de los granos de polen de palma.

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada el único antecedente melisopalinológico sobre *Butia capitata*, es el trabajo realizado a través del convenio PROBIDES-Facultad de Agronomía (1994).

2.4.2.2.6- Aptitudes apícolas según los productores de la zona

Según los productores apícolas de la zona y las observaciones realizadas, los palmares tienen un período de floración generalmente entre setiembre y enero, pero varía mucho ya que depende de las condiciones climáticas de cada año en particular, y en casos muy especiales puede llegar a no florecer. Durante el periodo en que la palma está florecida, las abejas trabajan con gran avidez en dicha especie. Los productores apícolas de la zona dicen, que cuando florece la palma las abejas trabajan mucho en ella.

3- MATERIALES Y METODOS

3.1.- UBICACION Y CARACTERISTICAS DEL ENSAYO

El ensayo se llevó a cabo en tres apiarios ubicados en la 6^{ta} seccional policial del departamento de Rocha, desde Setiembre de 1995 a Febrero de 1996 inclusive.

Los apiarios elegidos se hallan asentados en el palmar, y donde la densidad de la población de palmas es aproximadamente de 80 plantas por hectárea.

Las colmenas utilizadas son de tipo standard ó Langstroth, con una cámara de cría y un alza.

Las principales características de los apiarios utilizados en el ensayo son las siguientes:

Productores	Nºde colmenas totales del apiario	Nºde colmenas muestreadas	Localización
Saladino Ortiz	50	5	La Coronilla
Walter Correa	11	2	Los Arroyitos
Apiario "La Coronilla"	15	3	La Coronilla

3.2.- MATERIALES

3.2.1- Materiales de campo

3.2.1.1 -Para la realización de los patrones de polen se utilizaron partes reproductivas (flores), de especies vegetales colectadas en las zonas de influencia de cada apiario. Denominándose zona de influencia, a aquella zona en que pecorean las abejas en busca de alimento y que tiene un radio de 3 km del apiario o más según la oferta de alimento existente.

3.2.1.2 -Para la recolección de polen se utilizaron trampas de polen de piquera con malla plástica o metálica y orificios de 5 mm de diámetro, frascos y etiquetas.

3.2.1.3- Para la confección de un herbario se utilizaron plantas completas (hoja, tallo, raíz, flor y fruto) en los casos posibles.

3.2.1.4- Para el acopio de néctar se utilizaron panales labrados vacíos.

3.2.2- Materiales de laboratorio

3.2.2.1- Para la realización de los patrones de polen se utilizaron anzas, centrífuga de 5000 rpm, cubreobjetos, etiquetas, gelatina, mechero, microscopio óptico, papel absorbente, parafina, pera de goma, pipeta, portaobjetos, probeta, tubos de ensayo, varillas de vidrio y vasos de bohemia.

Se utilizaron los siguientes reactivos químicos: ácido acético glacial (químicamente puro), ácido sulfúrico concentrado (químicamente puro), ácido fénico y anhídrido acético (químicamente puro).

3.2.2.2- Para el estudio del polen colectado se utilizó: microscopio óptico (1200 aumentos), palinoteca, portaobjetos, atlas palinológico y productos químicos (cloroformo, glicerina).

3.2.2.3- Para la confección del herbario se utilizó papel de diario, papel offset 125g (20 x 35cm), tanque de plástico, pinzas de madera, rejilla y guantes. Reactivos químicos: alcohol industrial, bicloruro de mercurio y cloruro de sodio.

3.2.2.4- Para los análisis del néctar se utilizaron etiquetas, tubos de ensayo, pipeta de Pasteur, palinoteca, atlas palinológico, cámara de Neubauer, centrífuga de 5000 rpm, mechero, microscopio óptico, pera de goma, probetas, varillas de vidrio y vasos de bohemia. Reactivos químicos: ácido acético glacial, ácido sulfurico concentrado y anhídrido acético, todos químicamente puros.

3.3.- MÉTODOS

3.3.1-Diseño experimental

El diseño experimental para este ensayo fue completamente al azar. Para tal fin se eligieron tres apiarios con un número de colmenas igual o superior a diez. Se tomaron muestras de néctar y polen en un 10% del total de las colmenas de cada apiario al azar en cada visita. El 10% es una muestra compuesta del universo que luego fue cuarteada, utilizándose solamente un cuarto para cada análisis.

3.3.2- Patrones de polen

Se realizaron los patrones de polen para confeccionar una palinoteca de referencia. El objetivo de dicha palinoteca es permitir el reconocimiento de los distintos tipos de polen en los análisis cualitativos de néctar y a nivel de piquera.

Para la elaboración de patrones de polen se colectaron flores, de las cuales con ayuda de un anza, se extrae el polen de las anteras, las anteras o las flores enteras; según sean las flores con anteras grandes, con anteras pequeñas (*Eucalyptus sp.*), o amentos florales (*Salix humboldtiana*).

Con el fin de eliminar la parte celulósica del polen y/o de la flor se somete el material a la técnica de acetólisis citada por Erdtman (1969). El acetolizado del material es importante para el examen microscópico del polen ya que permite ver con mayor nitidez las estructuras de la pared del grano de polen. Además es el método más difundido en análisis melisopalinológicos y literatura palinológica.

La técnica de acetólisis consiste en colocar el material polínico en tubos de ensayo y suspenderlo en ácido acético glacial. Se centrifuga a 2500-3000 rpm por cinco minutos y se decanta. Se tira el líquido sobrenadante, lográndose así la deshidratación del grano de polen.

Luego se prepara la mezcla acetolítica al momento de utilizarla, añadiendo lentamente en una probeta, una parte de ácido sulfurico concentrado a nueve partes de anhídrido acético puro. Se añaden 5ml de dicha mezcla al sedimento polínico que quedó en cada tubo de ensayo y se calienta a baño María hasta que el agua alcanza el punto de ebullición, aproximadamente 1 minuto. Una vez logrado este punto, se interrumpe inmediatamente el calentamiento. Los tubos se dejan cuatro a cinco minutos en reposo después del calentamiento. Este calentamiento es conveniente hacerlo bajo campana de gases, por el gran desprendimiento de gases y la fuerte reacción de la mezcla acetolítica con el H₂O. Luego se centrifugan a 2500-3000 rpm durante cinco minutos, se decanta y se tira el líquido sobrenadante.

Al sedimento polínico acetolizado de cada tubo se le añaden 5ml de agua destilada, se agita con varilla de vidrio, se centrifuga y se repite el lavado. Luego se añade una mezcla de glicerina y agua destilada 1:1, con el objetivo de mejorar la visibilidad de los granos de polen. Se centrifuga por cinco minutos, se decanta y se tira el líquido sobrenadante. Los tubos se colocan boca abajo sobre papel absorbente. Por último el material acetolizado se monta con glicerina y se sella con parafina.

Cada patrón de polen es claramente identificado con nombre vulgar, nombre científico, fecha de elaboración y número de ubicación en la palinoteca.

El residuo de material acetolizado se guarda como archivo polínico en tubos de ensayo con agua glicerinada al 50% y 3 a 4 gotas de ácido fénico que evita el ataque de microorganismos al polen.

3.3.3- Recolección de polen

La recolección de polen a través de trampas de polen permite conocer las especies botánicas en las cuales la abeja está trabajando en el momento de cada visita.

Se utilizaron trampas de polen de piquera que se colocaron en las mismas colmenas que fueron muestreadas para néctar.

Las trampas fueron colocados por un período de un día con el propósito de cubrir el espectro de trabajo y que no queden especies sin identificar. Las abejas durante el día trabajan diferentes especies en distintos momentos, por ello es importante mantener las trampas todo el día.

El conocer todas las especies que trabajan las abejas durante el día, permite correlacionar su presencia en trampas con su presencia en néctar.

Luego de recolectado el polen, fue secado al aire libre sobre papel buscando la pérdida de humedad que poseían, con el objetivo de mantenerlo en buen estado por mayor tiempo. Fue envasado herméticamente en frascos de plástico para su posterior estudio en laboratorio.

En el laboratorio se cuartea la muestra compuesta con el fin de simplificar el conteo.

Para el análisis de polen fresco se coloca un cúmulo sobre un portaobjeto, se machaca, se le agrega una gota de cloroformo que actúa como desengrasante del grano, continuando con el machacado hasta que se evapora el cloroformo. Finalmente se le agrega una gota de glicerina (con la finalidad de mejorar la visibilidad de los granos de polen bajo el microscopio). Se identifican los granos de polen con la ayuda de un atlas palinológico, palinoteca y material bibliográfico. Posteriormente se separan los cúmulos por color y por especie y se cuentan.

3.3.4- Herbario

El herbario tiene como objetivo el reconocimiento de la flora asociada a los palmares que se halla en un radio de 3 km o más de cada apiario, y que además esté florecida en el momento de la visita.

Se colectaron plantas completas dentro de lo posible (hojas, tallo, raíz, flor, frutos) en un radio de 3km de cada apiario. Se tomaron como criterios de colección todas aquellas plantas en las que se veía trabajar las abejas por néctar o polen, y aquellas que figuran como de interés apícola en la bibliografía.

Las plantas fueron clasificadas botánicamente según Lombardo (1954, 1958, 1964, 1970, 1980) y el Curso de Conocimiento y Reconocimiento de Flora Indígena en la Laguna Negra (1994)

Las plantas colectadas como primer paso fueron colocadas entre hojas de diario hasta ser desecadas totalmente. Se debe tener la precaución de cambiarlas de hojas diariamente para evitar el ataque de hongos e insectos y además mantenerlas en una habitación con poca luz, sin humedad y ventilada.

Como segundo paso una vez desecadas las plantas se mantienen entre hojas de diario dentro de cajas herméticas con paradicloro para evitar el ataque de insectos.

En un tercer paso las plantas son envenenadas para lograr un mayor tiempo de conservación del material.

Técnica de envenenamiento: se prepara en tanques de plástico una solución de bicloruro de mercurio con alcohol industrial (30g $HgCl_2$ / lt de alcohol) más un gramo de cloruro de sodio o sal común. Luego de la disolución total de los ingredientes, se sumergen las plantas desecadas en la mezcla por tres a cinco minutos y se escurren sobre rejillas. Se debe trabajar con guantes y pinzas de madera por la alta toxicidad y corrosión de los ingredientes de la mezcla.

Una vez que se secaron las plantas se pegan sobre hojas de papel offset de 125g con cinta de papel blanco. Sobre el ángulo inferior derecho de la hoja se coloca una etiqueta con los siguientes datos:

- Nombre del colector
- Nombre científico de la planta
- Hábitat
- Características
- Localidad
- Departamento
- Fecha

A su vez cada muestra se identifica con un determinado número dentro del herbario.

3.3.5- Néctar

Los análisis de néctar permiten conocer las especies botánicas en las cuales la abeja trabajó en un período de una a dos semanas.

La utilización de néctar en vez de miel nos garantiza el hecho de que sea recién acopiado y además refleja el trabajo actual de la abeja. Esto se ve justificado por el hecho de que el período entre muestreos variaba de una semana a quince días, lo cual no permitía obtener miel madura en cada muestreo.

De cada apiario se muestreó un 10% de las colmenas utilizando tubos de ensayo, luego se mezclaron las muestras recolectadas en el apiario pertenecientes al 10% y se obtuvo una muestra compuesta del mismo.

Una vez obtenido el sedimento polínico se aplicó la técnica acetolítica de Erdtman ya descrita para el caso de patrones de polen. Se utilizó dicha técnica porque permite cumplir el objetivo de identificar los distintos tipos polínicos presentes en los néctares recolectados, y además porque es una de las más difundidas dentro de los análisis melisopolinológicos.

En laboratorio se realizaron dos tipos de análisis del contenido polínico del néctar: cuantitativo y cualitativo. Ambos análisis se realizaron simultáneamente bajo cámara de Neubauer. Para el análisis cuantitativo se contaron los granos de polen contenidos en el área del cuadrado grande de la cámara y para el análisis cualitativo se contaron todos los granos de polen identificados por género y/o especie contenidos en la gota dispersada de solución

Para el análisis cuantitativo se utilizó el método de la cámara de Neubauer que consiste en diluir 10g de miel en 20ml de agua destilada, previamente calentada a no más de 40°C. Se agita bien la mezcla. Se centrifuga a 2500-3000 rpm durante 5 minutos. El líquido sobrenadante se desecha. El sedimento de la miel obtenido se enrasa con agua destilada a un volumen de 0,5 cc. Se carga la cámara de Neubauer usando una pipeta de Pasteur. El conteo de los granos de polen se realiza usando microscopio óptico con un aumento entre 125 y 400X. El resultado se expresa en cantidad de granos de polen por cada 10g de miel.

En base a este análisis se buscó clasificar en forma estimativa los posibles tipos de mieles que producirían tales néctares.

El análisis cualitativo se basó en el conteo mínimo de 1200 granos de polen o más, en dos preparaciones distintas de la misma muestra para poder expresar los resultados en porcentaje.

En ambos análisis se utilizó microscopía óptica, que permitió igualmente cumplir con los objetivos del trabajo.

A través del análisis luz-oscuridad y trabajando con una magnificación de 125-400X se lograron tales objetivos .

3.3.6- Calendario de floración

Se realizó un calendario de floración de aquellas especies que fueron colectadas como de interés apícola según la bibliografía y la presencia de abejas en busca de néctar y/o polen. El objetivo de este calendario fue correlacionar la presencia de especies florecidas con la presencia de pólenes de diferentes especies tanto en néctar como a nivel de piquera. El calendario se basa en datos subjetivos de floración tomados en cada visita.

De acuerdo a los datos subjetivos se determinó: inicio, plena y fin de floración, lo cual permitió la elaboración de dicho calendario. Para indicar inicio de floración se tomaron como referencia y por apreciación visual, solamente un 20% del total de plantas florecidas por especie (estambres totalmente fuera de la corola en el caso de flores individuales y un 20% aproximadamente de flores abiertas en el caso de inflorescencia). Plena floración se dice cuando la mayoría de las plantas de una especie que se hallan en un determinado lugar, están florecidas. Fin de floración, cuando comienzan a aparecer en forma parcial o total por planta flores con anteras ya dehiscentes y/o flores secas.

Este calendario brinda información sobre el período de floración que tuvieron las distintas especies de interés apícola relevadas en el período Setiembre de 1995 a Febrero de 1996, en la 6^a seccional policial del departamento de Rocha.

Existe una concentración de la floración de las distintas especies en el período Primavera-Verano.

La floración de *Butia capitata* se da generalmente durante un período bastante largo. Este año en particular se extendió desde mediados de Noviembre a fines de Febrero.

Comparando con los resultados de floración obtenidos por Bazzurro et al. (1994), se nota un ligero desfase en las fechas y duración de la floración, fundamentalmente como consecuencia de las condiciones climáticas particulares del año. Con respecto a la floración de *Butia capitata*, el inicio de floración se atrasó un mes aproximadamente con respecto al año anterior y además duró menos tiempo. La causa de dicho atraso se puede atribuir a la gran sequía y falta de temperatura ideal para la ocurrencia de tal proceso.

Teniendo en cuenta los momentos en que se presentan los pólenes de las diferentes especies tanto en néctar como en piquera, se notó una correlación de la mayoría de éstas con los momentos de floración de las especies en cuestión.

De las 47 especies relevadas las únicas que aparecieron en néctar y en piquera, y que además se correlacionaron con los datos de floración relevados fueron :

-*Butia capitata*

-Familia Mirtaceae representada por *Eucalyptus sp.*, *Eugenia uniflora*,
Blepharocalix tweediei y *Myrrhinium loranthoides*.

-Familia Compositae representada por : *Achiroclyne satyroides*,
Anthemis cotula, *Baccharis spicata*, *Baccharis trimera*, *Cirsium vulgare*,
Eupatorium buniifolium, *Mikania sp.*, *Pluchea sagittalis*,
Eupatorium hecatanthum, etc.

-*Myoporum laetum*

-*Trifolium repens*

-*Cephalanthus glabratus*

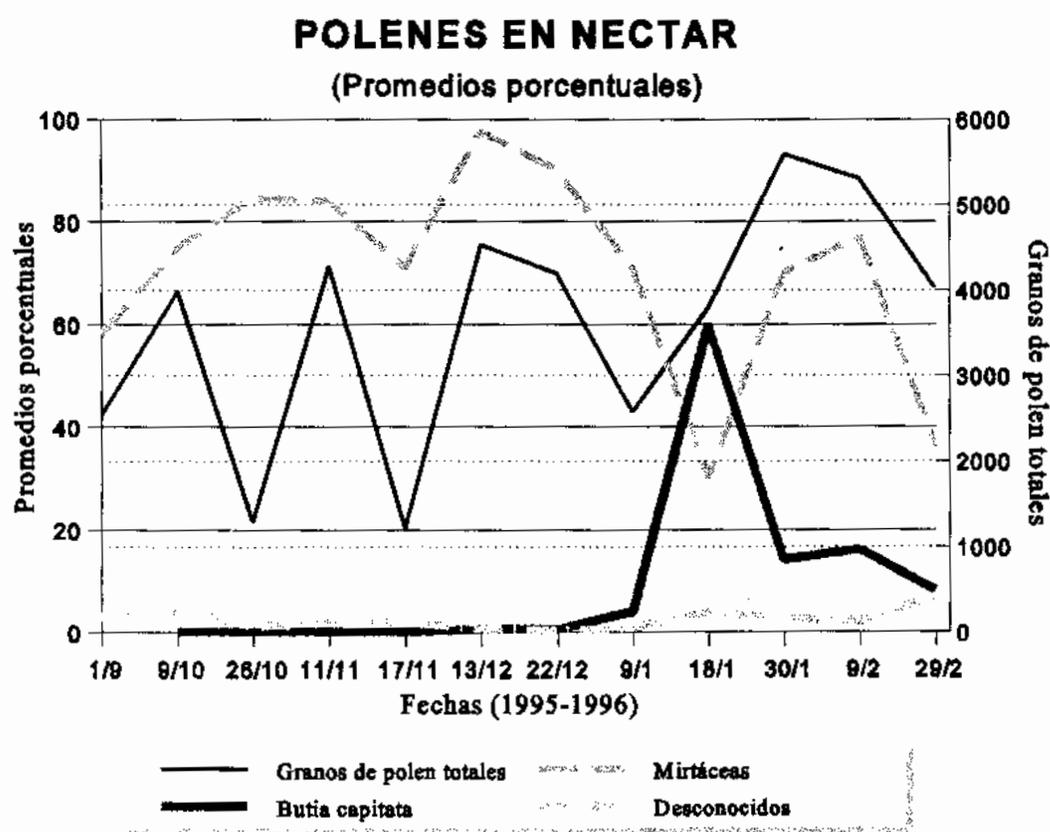
-*Daphnopsis racemosa*

-*Sagittaria montevidensis*

-*Polygonum punctatum*

- Erythrina cristagalli*
- Familia Umbelliferae representada por *Foeniculum vulgare*, *Eryngium nudicaule*,
Eryngium paniculatum.
- Ludwigia uruguayensis*
- Pontederia* sp.

4.2 Figura 1: Muestreo de Polen en Néctar (Análisis Cualitativo)



Esta figura presenta los resultados obtenidos del análisis cualitativo del contenido polínico de néctares. Dichos resultados se presentan en porcentajes promedios de pólenes de distintas especies existentes en los néctares por fecha de muestreo.

Al analizar el contenido polínico de los néctares se identificaron pólenes de aproximadamente catorce taxones y tres familias botánicas, lo cual señala que la abeja hace un uso parcial y muy variable de la flora apícola existente.

De acuerdo a la escala de frecuencia de pólenes presentes en miel establecida por la Comisión Internacional de Botánica Apícola de IUBS (Unión Internacional de Ciencias Biológicas), el polen predominante para el promedio del período fue el polen de la familia Mirtaceae. No hubo polen secundario y como pólenes de menor importancia está el de *Butia capitata*, el resto pertenece a pólenes menores.

La presencia de los distintos tipos polínicos en néctar se hallaron en su mayoría correlacionados con el período de floración. En muchos casos la aparición de pólenes de determinadas especies se dio en pocas fechas y muy puntuales. Esto podría explicarse por la falta de agua en el suelo que genera estrés en las plantas y con ello disminuye la secreción de néctar y traslocación de azúcares. Como consecuencia la abeja trabajó en esas especies cuando la condición hídrica de la planta permitió la secreción de néctar.

Con respecto al muestreo de polen en piquera se observó correlación total de éstas con las presentes en néctar aunque en néctar aparecieron otras especies como *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*, *Sagittaria montevidensis*, *Erythrina cristagalli* y la familia Umbelliferae representada por *Foeniculum vulgare*, *Eupatorium buniifolium*, *Eupatorium paniculatum*.

En la figura 1 se observa que el polen de *Butia capitata* se halla en néctar desde mediados de Diciembre a fines de Febrero al igual que a nivel de piquera. Los porcentajes a los que se halla lo ubican dentro de pólenes de menor importancia o polen secundario excepto a mediados de Enero en que el polen de *Butia capitata* es predominante con un porcentaje promedio para dicha fecha de 60%. Cabe destacar que dentro del período en que aparece polen de *Butia capitata* en néctar hubo muestras con porcentajes superiores al 90%.

El polen de *Butia capitata* apareció en los mismos momentos en néctar que en piquera aunque los porcentajes en néctar fueron menores a los obtenidos a nivel de piquera. Lo contrario se dio a nivel de la familia Myrtaceae. En esta misma fecha el polen de la familia Myrtaceae disminuye notoriamente ubicándose como polen secundario con un 30%.

Al comparar estos resultados con los obtenidos por Bazzurro et al. (1994), podemos notar que mientras ese año las mieles tuvieron porcentajes promedios de polen de *Butia capitata* del 91% en el mes de Noviembre, este año el polen de dicha especie se presentó como predominante a mediados del mes de Enero con un 60% promedio.

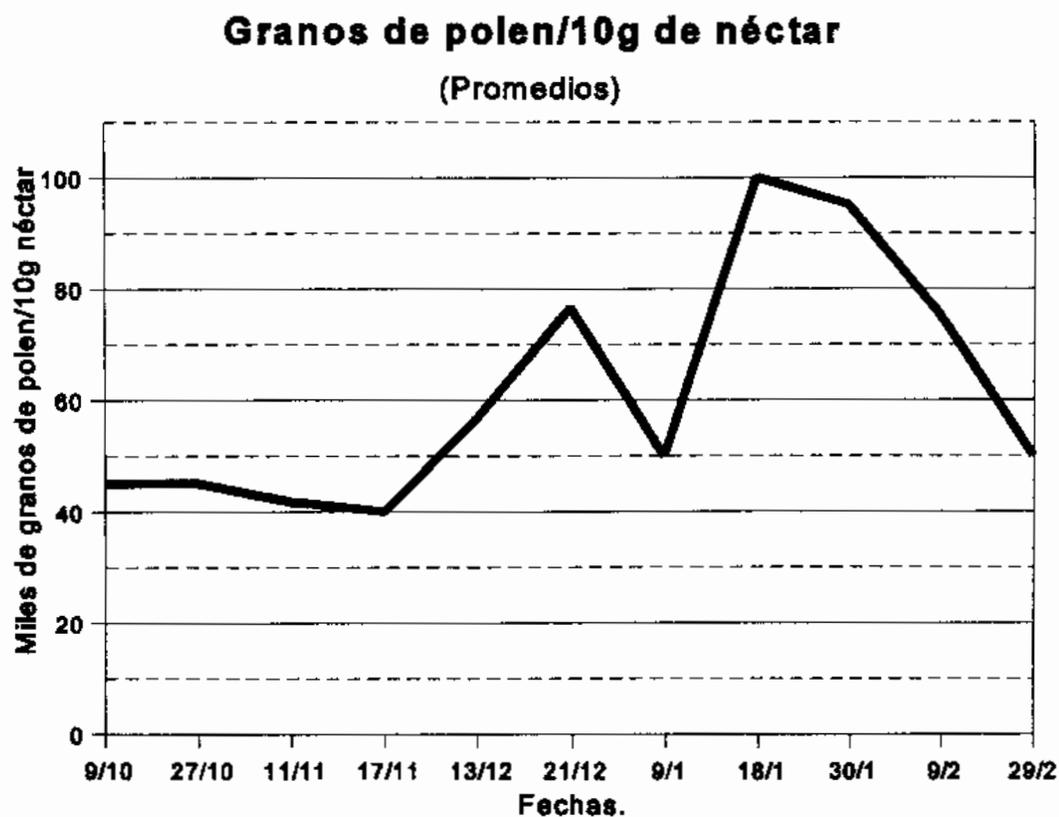
Con respecto a los resultados obtenidos en 1994 se observa este año la aparición de nuevos taxones siendo los mismos: *Cephalanthus glabratus*, *Ludwigia uruguayensis* y *Daphnopsis racemosa*. Los mismos aparecen siempre como pólenes menores (<3%).

El comportamiento de la palma comparado al del ensayo 1994 es similar pero desfasado en el calendario. El período de floración se atrasó aproximadamente un mes con respecto al año 1994.

La familia Myrtaceae en Noviembre de 1994 se presentó como polen de menor importancia y como secundario a fines de Diciembre, mientras este año el polen fue predominante durante todo el período excepto a mediados de Enero en que se ubicó como polen secundario.

La competencia de las especies que representan la familia Myrtaceae con *Butia capitata* fue marcadamente mayor al año 1994, ya que estuvieron más tiempo presentes en las mieles y en muy altos porcentajes.

Figura 2- Muestreo de polen en néctar (Análisis Cuantitativo)



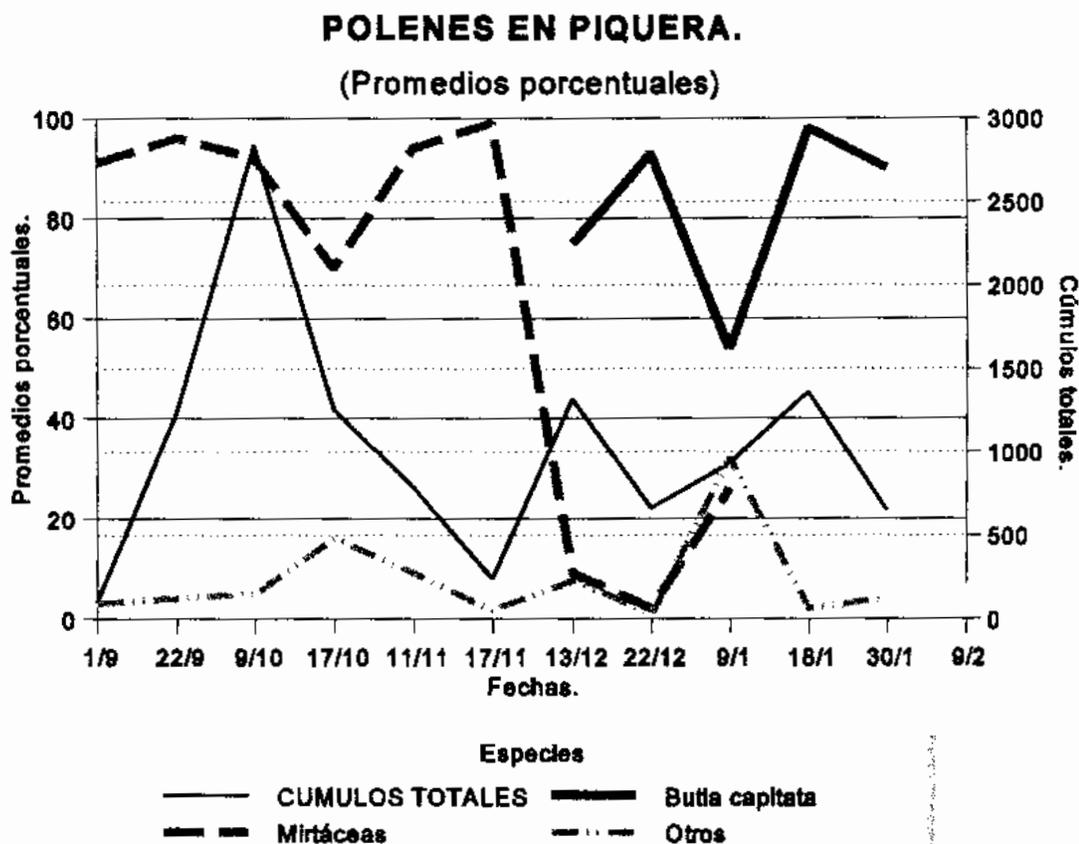
En la figura 2 se muestran los resultados promedios del número de granos de pólen por cada 10 g de néctar en las distintas fechas en que se realizó el muestreo.

En dicha figura se observa que el máximo contenido de granos de polen en 10g de néctar se dió a mediados de enero, lo cual coincide con el mayor porcentaje de polen de *Butia capitata* tanto en néctar como a nivel de piquera.

De acuerdo a los resultados, existe una alta tendencia a que las mieles que se obtengan de los néctares analizados se puedan clasificar como mieles de la clase II.

Los néctares analizados eran de acopios recientes lo que significa que tienen una alta concentración de agua y una baja concentración de carbohidratos, pero también han sufrido muy pocas transformaciones. Las transformaciones consisten fundamentalmente en la pérdida de agua y el agregado de secreciones salivales y glandulares.

4.3 Figura 3: Muestreo de polen a nivel de piquera



Los resultados obtenidos del muestreo de polen a nivel de piquera se presentan a través de esta figura donde se observan los porcentajes promedios por fecha de muestreo de las especies más importantes.

Se identificaron pólenes de siete taxones aproximadamente y dos familias en base al análisis del polen que apareció en piquera. Esto indica que de la totalidad de la flora apícola existente y relevada en este período las abejas sólo utilizaron una cierta fracción de ella.

De los datos obtenidos (ver cuadro 2 en Anexo) surge que las especies en que trabajó la abeja fueron : *Butia capitata*, especies de la familia Myrtaceae (*Myrrhinium loranthoides*, *Blepharocalix tweediei*, *Eugenia uniflora* y *Eucalyptus sp.*), *Ludwigia uruguayensis*, *Cephalanthus glabratus*, especies representantes de la familia Compositae, *Pontederia sp.*, *Polygonum punctatum* y *Myoporum laetum*.

La figura 3 muestra que del total de tipos polínicos identificados, el que se mantuvo presente en la mayor parte del período en estudio, desde Setiembre a mediados de Enero, fue el polen de la familia Myrtaceae, con un porcentaje promedio en el período de 54%. Su momento de mayor incidencia fue en el período Setiembre a mediados de Noviembre con un porcentaje promedio de 64%.

El polen de *Butia capitata* aparece desde mediados de Diciembre a fines de Enero en porcentajes superiores en promedio al 70%, siendo su máxima participación a mediados de Enero con 98% promedio. Mientras esta especie se halla florecida, el polen a nivel de piquera se presenta en altas cantidades y en forma constante.

En la medida que la abeja comienza la recolección de polen de *Butia capitata*, disminuye bruscamente la presencia del polen de la familia Myrtaceae en piquera hasta desaparecer, acompañando el fin de su floración.

El cuadro 2 muestra que las especies de bañado están representadas por las siguientes especies: *Ludwigia uruguayensis*, *Polygonum punctatum*, *Pontederia sp.*, etc. Se hallan en porcentajes inferiores a 5% y con apariciones muy puntuales.

Al comparar los resultados obtenidos este año con los del año 1994, se observa una variación no sólo en la cantidad de especies trabajadas por la abeja, sino además en los momentos en que aparecieron en piquera, que fueron desplazados en el calendario. También se nota una ligera disminución tanto en porcentajes de pólenes de *Butia capitata* como de Myrtaceae ya que éstas se presentan en promedios de 70 y 54 % respectivamente para todo el período de estudio.

Mientras el máximo porcentaje de polen de *Butia capitata* se presentó para el año 1994 en Diciembre con más del 90%, este año se dio a mediados de Enero con 98% promedio.

Con respecto al año 1994 aparecieron nuevas especies como *Ludwigia uruguayensis*, *Cephalanthus glabratus*, *Pontederia sp.*, y especies de la familia Compositae; algunas de estas son típicas de bañado (*Ludwigia uruguayensis*) pero se hallaron en muy bajos porcentajes.

Merece resaltar que el polen de *Butia capitata* fue similar en porcentaje al año 1994 sólo que desfasado en el tiempo.

4.4 -CARACTERIZACION EXTERNA DEL GRANO DE POLEN DE *BUTIA CAPITATA*

En base a 50 mediciones realizadas al grano de polen de *Butia capitata* se obtuvo un resultado promedio de cada uno de los siguientes parámetros:

-diámetro ecuatorial :	36,0 μ \pm 16,1
-diámetro mayor :	48,8 μ \pm 15,0
-eje polar :	56,7 μ \pm 12,9
-eje menor :	34,0 μ \pm 14,7
-abertura-longitud :	44,9 μ \pm 14,9
-ancho :	2,5 μ \pm 0,2
-exina (grosor) :	1,9 μ \pm 0,2

Bajo microscopio óptico se observó que el grano de polen presenta ornamentación granulosa y estructura reticulada.

Para determinar la forma del grano de polen se tomó como base la clasificación propuesta por Erdtman (1952). Este determina la forma a partir de la relación eje polar-diámetro ecuatorial.

P/E: $56,7/36,05=1,57$ μm . El resultado permite ubicar al grano de polen de *Butia capitata* dentro de la forma *Prolato*.

Comparando con los datos obtenidos por Kedves (1980) se nota que existen diferencias.

	Kedves (1980)	Sánchez (1995)
Grosor de la exina	1,5 μ	1,9 $\mu \pm 0,2$
Eje longitudinal	36,0-42,0 μ	36,0 $\mu \pm 16,1$

Tales diferencias se podrían atribuir a que las especies analizadas no sean de la misma variedad botánica, aunque no se descarta la existencia de otras causas.

Al comparar los datos de *Butia capitata* con los de otras especies dentro del género *Butia* estudiadas por Arbo (1974), se vió que los valores de los parámetros medidos se hallan dentro de los rangos obtenidos por Arbo (1974).

5.- CONCLUSIONES

- 1.- De acuerdo al objetivo general planteado se identificaron tipos polínicos de catorce taxones y tres familias en las muestras de néctar. Esto permitió lograr una caracterización palinológica de las muestras de néctar de la zona en estudio, como un primer paso en la futura tipificación botánica y/o por denominación de origen de la miel de *Butia capitata*.
- 2.- En base a la confección de un herbario, un calendario floral y una palinoteca de referencia se relevaron 47 especies de interés apícola, a las cuales se les estudió su evolución a lo largo del período analizado. Este estudio permitió concluir que existe una gran oferta floral en la zona, que compite con la especie de interés (*Butia capitata*) principalmente en cuanto a néctar.
- 3.- La elaboración del calendario floral permitió confirmar la relación directa entre especies florecidas y presentes en néctar y/o a nivel de piquera.
- 4.- A través de la identificación y cuantificación del polen recolectado con trampas de piquera se concluyó que la abeja hace un uso parcial de la flora apícola existente.
- 5.- Dadas las características particulares de la floración de *Butia capitata*, las posibilidades de lograr tipificar botánicamente la miel de dicha especie, están supeditadas a futuros estudios de investigación que permitan establecer criterios y pautas físico-químicas y organolépticas.
- 6.- El polen de *Butia capitata* tanto en néctares como a nivel de piquera estuvo constantemente presente durante el período de floración y en porcentajes que justifican la continuidad de los estudios con el fin de profundizar en el tema .
- 7.- La presencia en las mieles estudiadas de determinadas especies botánicas de zonas húmedas (*Sagittaria montevidensis*, *Cephalanthus glabratus*, *Erythrina cristagalli*, *Ludwigia uruguayensis*) que aparecen asociadas con frecuencia a *Butia capitata*, permitirían avanzar en los estudios de tipificación por origen geográfico.

8.- En base a los objetivos planteados la posibilidad de producir mieles con tipos polínicos característicos en la zona existe. Para el caso de los palmares de *Butia capitata*, la producción de miel con alto contenido polínico (más del 45 %) de dicha especie, depende marcadamente de las condiciones ambientales en que se presente el período de floración y de la gran competencia que tiene la especie en estudio en esta zona con otras de interés apícola, como por ej. especies de la familia Myrtaceae.

9.- Mientras *Butia capitata* se halla florecida, las abejas visitan esta especie, principalmente en busca de polen pero también néctar. Esto se ve reflejado en los resultados; ya que los porcentajes en néctar fueron bajos (menos de 45%) y altos a nivel de piquera (más del 70 %) para dicha especie, con respecto a la familia Myrtaceae que es muy competitiva.

10.- Durante el período de floración de *Butia capitata* los porcentajes de polen a nivel de piquera se hallan entre 75 y 98 %, mientras que a nivel de néctar el porcentaje más alto se logra a mediados de enero con un 60 %.

11.- Los análisis cuali y cuantitativos de los contenidos polínicos de los néctares producidos en la zona durante el período en estudio permitieron concluir que, desde el punto de vista cualitativo la familia Myrtaceae fue la más representativa la mayor parte del período, ya que fue relegada en su uso por la abeja cuando aparece el polen de *Butia capitata*. Este análisis también indicó que de las 47 especies relevadas la abeja trabajó sólo en algunas: *Cephalanthus glabrathus*, *Sagittaria montevidensis*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Erythrina cristagalli*, *Ludwigia uruguayensis*, etc. De acuerdo al análisis cuantitativo no se puede tener una conclusión exacta ya que lo analizado fue néctar y no miel, así mismo los néctares analizados tuvieron alto contenido polínico por cada 10g de néctar. Se podrían esperar valores superiores si se hubiera analizado miel en vez de néctar.

12.- Los resultados obtenidos indican que en este año en particular, los mayores porcentajes de polen de *Butia capitata* (60% en néctar) se dieron a mediados de Enero.

13.- Según las observaciones realizadas el período entre la aparición del espádice y el inicio de floración es de 25 a 35 días. Esto permite realizar una recomendación de manejo para producir miel de palma va a depender de este período en particular para cada año.

14.- La información presentada corresponde al período Setiembre /95 - Febrero/96, bajo condiciones ambientales y apícolas particulares. Como consecuencia de esas condiciones se dieron grandes variaciones en el comportamiento de la flora de los humedales en general como de *Butia capitata* en particular con respecto al año anterior. Dicho comportamiento se vio reflejado totalmente en el diferente trabajo de la abeja.

15.- El número de especies identificadas a nivel de piquera permiten indicar que la abeja hace un uso diferencial de la gran oferta floral existente, ya que de los 47 taxones identificados a través del relevamiento, la abeja trabajó sólo en 7 taxones y 2 familias.

16.- Los altos porcentajes de polen de *Butia capitata* obtenidos a nivel de piquera hacen pensar en que el mismo pueda tener mayor facilidad de pecorea y atracción (aroma, color, etc.) para las abejas que el de otras especies. En base a esto se podrían instrumentar estudios para analizar la composición del polen y posteriormente promover o no su recolección.

6.- RESUMEN

El estudio se desarrolló en la zona Norte del departamento de Rocha (Uruguay) durante el período Setiembre/95-Febrero/96, donde existe una población de palmas *Butia capitata* de gran extensión y con una densidad de 80 plantas por hectárea .

Se trabajó en tres apiarios en los cuales se muestreó néctar y polen. Además se colectaron especies vegetales florecidas en la zona de influencia de cada uno de ellos.

Las muestras de néctar se analizaron en laboratorio tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo bajo microscopio óptico y cámara de Neubauer. Además se estudió particularmente el grano de polen de *Butia capitata* bajo microscopio óptico .

Los principales resultados obtenidos son:

- período de floración de *Butia capitata* es largo (mediados de Noviembre-fines de Febrero).
- relación directa entre especies relevadas florecidas y especies presentes en néctar y a nivel de piquera.
- el análisis cualitativo de los sedimentos polínicos de los néctares analizados mostró un bajo número de especies, identificadas por tipo polínico. Se destacaron como especies más representativas y competitivas con *Butia capitata* las pertenecientes a la familia Myrtaceae.
- existió relación directa entre especies presentes en néctar y a nivel de piquera.
- el máximo porcentaje promedio de polen de *Butia capitata* se dió a mediados de Enero (60%), lo cual coincide con el máximo de contenido polínico de los néctares analizados (100 mil granos de polen/10g de néctar aproximadamente).
- las especies de bañado estuvieron presentes tanto a nivel de piquera como en néctar pero en bajas proporciones (menos de 5%) y en apariciones muy puntuales.

7.- BIBLIOGRAFIA

1. ARBO, M.M. 1974. El polen de las palmeras argentinas. *Bonplandia (Arg)* 3(13):171-193.
2. BAILEY, L.H. 1936. The Butias. *Gentes Herbarum*. 4(1):1-50.
3. BAÑO BREIS, F DEL; PERÉZ SÁNCHEZ, C; CANDELA CASTILLO, M.E (1994). *Palinoteca: Referencia para el análisis polínico de mieles de la Región de Murcia*. 3. Floración de Otoño. *Vida Apícola*. N°63:25-33.
4. BAÑO BREIS, F DEL; PERÉZ SÁNCHEZ, C; CANDELA CASTILLO, M.E (1994). *Referencia para el análisis polínico de mieles de la Región de Murcia*. 4. Floración de Invierno. *Vida Apícola* . N°64:35-41.
5. BAZZURRO, D; DÍAZ, R. 1995. Un uso sustentable de la palma butiá. *Tipificación de miel. PROBIDES. Bañados del Este. (Uy)*. 2(6):12.
6. CARRETERO, J. R. 1989. *Análisis polínico de la miel*. Madrid. Mundi-prensa. 117p.
7. CASTELLANOS, A; RAGONESE, A. 1949. Distribución geográfica de algunas palmas del Uruguay. *Lilloa. (Arg)*. 20:251-261.
8. CHEBATAROFF, J. 1971. Condiciones ecológicas que influyen en la distribución de las palmeras del Uruguay. *Facultad de Humanidades y Ciencias. Trabajos de Investigación y de Revisión (Uy)* N°4:22.
9. CHEBATAROFF, J. 1974. *Palmeras del Uruguay*. Universidad de la República. Facultad de Humanidades y Ciencias (Uy).
10. CURSO DE CONOCIMIENTO Y RECONOCIMIENTO DE FLORA INDÍGENA EN LA LAGUNA NEGRA. Departamento de Rocha. 1, 1994, Rocha. *Curso de conocimiento y reconocimiento de flora indígena*. Montevideo. PROBIDES, IMM, IMR. 100p.

11. ERDTMAN, G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms. Stockholm. Almqvist and Wiksell. 539 p.
12. FERNÁNDEZ, J; BURGUES, S. 1943. Importancia del polen en la determinación de las mieles. Revista de la Facultad de Agronomía (Uy). N°31:9-23.
13. HARLEY, M.M.1990. Occurrence of simple, tectate, monosulcate or trichotomosulcate pollen grains within the Palmae. Review of Palaeobotany and Palynology. 64:137-147.
14. HOWES, F.N.1953. Plantas melíferas. Flora silvestre y cultivada de valor para la vida del colmenar y la cosecha de miel. Barcelona. Reverté.273p.
15. JEAN PROST, P. 1985. Apicultura: conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena. Madrid. Mundi Prensa. 551p.
16. KEDVES, M.1980. Morphological investigation of recent Palmae pollen grains. Acta Botánica Academiae Scientiarum Hungaricae (Hungary). 26(3-4):339-373.
17. LEMARQUANT MULET, A.1982. Origen botánico de la miel para el Uruguay. Tesis Ing. Agr. Montevideo. Uruguay. Facultad de Agronomía.66p.
18. LOMBARDO, A.1954. Inventario de las plantas cultivadas en Montevideo. Montevideo I.M.M. 270p.
19. LOMBARDO, A.1958. Los árboles cultivados en los paseos públicos. Montevideo I.M.M. 269p.
20. LOMBARDO, A.1964. Flora arbórea y arborescente del Uruguay. Montevideo I.M.M. 151p.
21. LOMBARDO, A.1970. Las plantas acuáticas y plantas florales. Montevideo I.M.M. 261p.
22. LOMBARDO, A; MUÑOZ, J.1980. Plantas trepadoras. Montevideo I.M.M. 103p.
23. LOUVEAUX, J.1970. Atlas photographique d'analyse polinique des mieles.

24. LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. 1978. Methods of Melissopalynology. *Bee world* (5a): 139-157pp.
25. MAURIZIO, A. 1949. L'abeille et le fleur.
26. MC CURRACH, J.C. 1970. *Palms of the world*. New York. Harper y Brothers. 280p.
27. REITSMA, T. 1969. Size modification of recent pollen grains under different treatments. *Review of Palaeobotany and Palynology*. 9:175-202.
28. SAÉNZ DE RIVAS, C. 1978. *Polen y Esporas. Introducción a la palinología y vocabulario palinológico*. Madrid. Blume. 219p.
29. SOWUNMI, M.A. 1968. Pollen morphology in the Palmae, with special reference to trends in aperture development. *Review of Palaeobotany and Palynology*. 7:45-53.
30. STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. 1974: *Pollen Biology Biochemistry Management*. Springer Verlag. Berlin. Heidelberg. New York.
31. THANIKAIMONI, G. 1970. Pollen morphology, classification and phylogeny of Palmae. *Adansonia*. 10(3):347-365.
32. TOMLINSON, P.B. 1990. *The structural biology of palmas*. New York. Clarendon Press. 465p.
33. UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA (URUGUAY) FACULTAD DE AGRONOMIA. 1997. *Microbiología. Guía de clases 1997*. Mdeo. Facultad de Agronomía. 69p.
34. URUGUAY. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION AGROPECUARIA. 1991. *Caracterización de la apicultura en el sistema cooperativo*.

Cuadro 3 Promedios porcentuales de polen en néctar de las distintas especies por fecha. (Resumen del Total de Colmenas).

Fechas	1/9	9/10	26/10	11/11	17/11	13/12	22/12	9/1	18/1	30/1	9/2	29/2
Granos de polen	2542	3989	1291	4270	1210	4518	4186	2580	3790	5585	5299	4025
Mirtáceas	58,0	75,0	84,5	84,0	71,0	97,5	90,0	72,0	30,0	70,0	77,0	36,0
Compuestas	20,0	1,0	0,0	0,6	0,0	0,0	1,0	0,3	0,8	0,0	0,2	2,0
Acacia sp.	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Umbelíferas	7,0	6,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,5	1,0
Butia capitata	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	4,0	60,0	14,0	16,0	8,0
Lotus corniculatus	0,0	7,0	3,0	0,1	1,6	0,1	0,6	4,0	0,0	13,0	0,1	39,0
Myoporum laetum	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cephalantus glabratus	0,0	1,0	1,2	3,0	0,2	0,0	1,0	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Sagittaria montevidensis	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,5	1,0	0,5	1,0	0,0
Trifolium repens	0,0	0,0	10,5	8,3	23,4	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Trifolium pratense	10,0	3,0	0,0	2,0	0,0	1,8	3,0	3,0	0,0	1,0	2,2	0,0
Erythrina crista-galli	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,5	2,0	0,6	0,0	0,0
Ludwigia uruguayensis	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
Otros	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	0,0	7,0
Desconocidos	0,0	2,0	0,5	2,0	2,0	0,1	0,1	0,7	4,0	0,5	1,0	7,0