

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EL POLEN DE  
PLANTAS PARA ELABORAR UN PATRÓN DE REFERENCIA**

**POR**

**LORENA COLÍN CUEVAS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EL POLEN DE  
PLANTAS PARA ELABORAR UN PATRÓN DE REFERENCIA**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

**POR**

**LORENA COLÍN CUEVAS**

**ASESOR**

**M.C. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"**

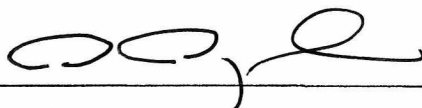
**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**TESIS**

**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EL POLEN DE  
PLANTAS PARA ELABORAR UN PATRÓN DE REFERENCIA**

**PRESIDENTE DEL JURADO**



---

**M.C. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS  
AGRONÓMICAS**



---

**M.C. JOSÉ JAIME LOZANO GARCÍA**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

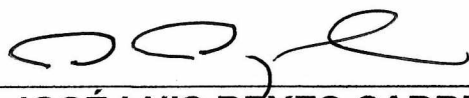
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

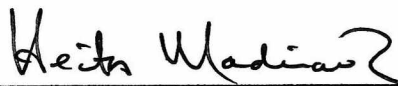
**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EL POLEN DE  
PLANTAS PARA ELABORAR UN PATRÓN DE REFERENCIA**

**TESIS DEL C. LORENA COLÍN CUEVAS QUE FUE REVISADA Y  
APROBADA POR:**



---

**M.C. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO  
ASESOR PRINCIPAL**



---

**DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS  
CO-ASESOR**



---

**ING. FRANCISCO SUAREZ GARCÍA  
CO-ASESOR**



---

**ING. RUBI MUÑOZ SOTO  
CO-ASESOR**

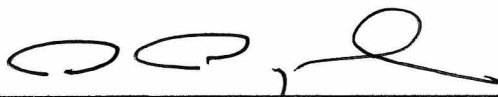
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

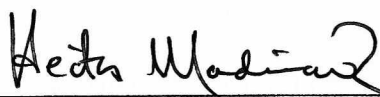
**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EL POLEN DE  
PLANTAS PARA ELABORAR UN PATRÓN DE REFERENCIA**

**TESIS DE LA C. LORENA COLÍN CUEVAS QUE FUE REVISADA  
Y APROBADA POR:**



---

**M.C. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO  
PRESIDENTE**



---

**DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS  
PRIMER VOCAL**



---

**ING. FRANCISCO SUÁREZ GARCÍA  
SEGUNDO VOCAL**



---

**ING. RUBI MUÑOZ SOTO  
VOCAL SUPLENTE**

## **AGRADECIMIENTOS**

COECYT

Por darme la oportunidad de obtener una beca, para la realización de la tesis.

A MI ALMA MATER

Por darme la oportunidad de culminar una carrera profesional , ya que es muy noble y sin su ayuda no podría terminar esta carrera.

Al M. C. José Luis Reyes Carrillo, por apoyarme en los momentos difíciles en el cual me tendió la mano.

A mis amigos Noé, Esteban, Refugio, Marco Antonio y compañeros con los que culmine la carrera.

## **AGRADECIMIENTOS ESPECIALES**

Al Dr. Eleno Hernández Martínez y a la Sra. Maria Trinidad Caudillo de Hernández e hijas que me brindaron su amistad incondicional y me tendieron la mano en los momentos difíciles de la carrera.

Al M. C. Edgardo Cervantes Álvarez y a la Sra. Paula Padrón de Cervantes e hijos por brindarme su amistad incondicional.

M.V.Z. María de Jesús Acosta por darme su amistad incondicional y en los momentos mas difíciles que estuviste conmigo.

LOS APRECIO MUCHO

## **DEDICATORIAS**

### **A MIS PADRES**

CARMEN CUEVAS ESPINOSA Y FRANCISCO COLÍN GONZÁLEZ

Por darme fortaleza y oportunidad de realizarme como profesionista, apoyándome en los momentos maravillosos y los mas difíciles de mi vida, ya que sin ustedes no hubiera llegado donde estoy, son lo máximo.

### **A MIS HERMANOS**

ABEL Y AGUSTÍN

Por los momentos alegres y difíciles con los que hemos salido adelante.

### **A MI ESPOSO**

PEDRO MURRILLO VITE

Por aparecer en mi vida y quererme demasiado, por apoyarme en todo momento para crecer junto a mí como persona y como pareja, por no limitarme como otras parejas y cuidarme mucho, te amo.

GRACIAS POR ESTAR CONMIGO

# ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS-----	i
DEDICATORIAS-----	ii
RESUMEN-----	iii
ÍNDICE-----	iv
ÍNDICE DE CUADROS-----	v
INTRODUCCIÓN-----	1
OBJETIVOS-----	3
REVISIÓN DE LITERATURA-----	4
La flor-----	4
El perianto-----	4
El androceo-----	4
El gineceo-----	4
El eje floral-----	4
Polen y agentes polinizadores-----	5
Identificación del polen-----	6
Caracterización de mieles a través del estudio del polen -----	7
Preparación para observar el polen-----	11
Materiales y métodos mas utilizados( Kearns Inouye 1993)-----	13
Mezcla de acetolisis -----	13
Para especies de herbario -----	13
Para material fresco -----	14
Montajes con glicerina (Glicerol).-----	16
El método Hoyer-----	17
Medio de montaje con polivinil lactofenol. -----	18
Revisión para microscopio electrónico -----	18
Tamaño de polen-----	21
Colecta de polen -----	22
El polen de plantas Anemófilas-Trampas Pegajosas-----	23
Colecta de anteras-----	24
La cuantificación de polen-----	25
MATERIALES Y MÉTODOS-----	28
Aislamiento e identificación del polen-----	28
Época de floración de especies visitadas por las abejas-----	28
Técnica para aislamiento de polen-----	28
Mezcla de acetolisis-----	29
Procedimiento-----	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	31
CONCLUSIONES-----	48
BIBLIÓGRAFIA-----	49



## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO

Página

1	PLANTAS ENCONTRADAS A TRAVES DE LA COLECTA DE POLEN POR LAS ABEJAS. SIERRA DEL SARNOSO MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO 2002-2003.-----	32
2	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO ,DURANGO DEL 04-JUNIO-02	40
3	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02	40
4	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02	41
5	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO ,DURANGO DEL 04-JUNIO-02	41
6	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02	42
7	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02	42
8	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02	43
9	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02	43
10	PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑON DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02	44

- 12 PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02 45
- 13 PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO ,DURANGO DEL 04-JUNIO-02 45
- 14 CALENDARIO DE LA FLORACION DE PLANTAS SILVESTRES ESTIMADA A TRAVES DE LA COLECTA DE POLEN POR LAS ABEJAS. SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO ,DURANGO 2002-2003.----- 46

## INTRODUCCIÓN

La polinización puede definirse como la transferencia de células sexuales masculinas –polen- desde los órganos masculinos –anteras- de una flor hasta la superficie receptora femenina –estigma- de una segunda flor (Ollerton 1999).

La polinización en las plantas que florecen empieza cuando el polen cae sobre el estigma. El proceso continúa cuando el polen germina y el tubo polínico crece a través de los espacios intercelulares en el pistilo, y culmina cuando los gametos masculinos alcanzan el óvulo y ocurre la fertilización. Hay dos etapas en la remoción del polen, primero la flor debe atraer a los polinizadores, y entonces, cuando lleguen los polinizadores, la flor debe ser efectiva para colocar el polen en el cuerpo del polinizador. El proceso que ocurre más tarde puede depender del tiempo que se permanezca en la flor (Rush *et al.*, 1995). También depende de los patrones de comportamiento que le permitan ir en busca de flores de color, forma y olor similares a la recién visitada, y, existir algún grado de ajuste morfológico entre el polinizador y la flor, de modo que pueda efectuarse la polinización (Ollerton, 1999). Se conoce que los polinizadores responden a las variaciones en la morfología floral (Conner *et al.*, 1995) y en el color (Waser y Chittka, 1998). Estudios que utilizan tanto la variación natural en el tamaño de la flor o manipulación experimental de la longitud de los pétalos han mostrado que los polinizadores prefieren las flores más grandes. La variación intraespecífica en color y esencia también influyen en las visitas (Conner, Davis y Rush 1995; Krupnick, Weis y Campbell, 1999).

El polen es el mejor atrayente para muchos polinizadores, es una parte importante en la dieta de muchos visitantes de las flores, y un componente esencial de la reproducción sexual y de genes de flores. De esta manera no es sorprendente que haya mucho esfuerzo para el desarrollo de técnicas de identificación, conteo, análisis y distinción de polen en flores.

En las angiospermas el grano de polen está formado por dos estructuras exina (donde la lipoproteína es predominante) e intina o pared celular. La mitosis es primero haploide produciendo una micro espora generativa y un núcleo vegetativo: Los núcleos generativos pasan por mitosis produciendo dos gametos masculinos dependiendo de el taxón esto puede ser posible antes de que ocurra (polen trinuclear) o anteriormente (binucleado) el polen desaparece. Uno de los gametos puede fusionarse con un huevo celular y el segundo puede fusionarse con el núcleo endospermico primario desde el endospermo triploide usualmente en el proceso de doble fecundación.

Los granos de polen de coníferas también tienen una intina y una estructura con exina aunque la exina paterna no es generalmente una característica que genera otras especies en las angiospermas. Los granos de polen forman mas miembros en las Pinaceas y en Podocarpaceas con forma de saco. Algunas coníferas son polinizadas por el viento.

## OBJETIVO

Elaborar e identificar un patrón de referencia de granos de polen de plantas polinizadas por las abejas.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### La flor

Las plantas, están formadas por una variedad de estructuras diferentes, entre los que destacan las hojas, estambres, inflorescencias, frutos. Cada una variará de una especie a otra, aunque los miembros de cada familia tendrán unas características comunes a compartir.

Es interesante conocer estas estructuras para poder comprender y diferenciar estas plantas y flores.

**El perianto:** Constituye la parte no reproductiva de la flor. La **corola** que está formada por los pétalos que son las piezas coloreadas de las flores. Su función es atraer a los insectos portadores de polen. El **cáliz** que es la parte verde de la flor. Tiene una consistencia mas fuerte que la corola y a sus piezas les llamamos sépalos.

**El androceo:** Es la parte masculina de la flor .Está constituida por los **estambres** que no son otra cosa que unas hojitas que se han transformado con la finalidad de llevar el polen. Cada estambre tiene dos partes: El **filamento** que lleva encima una especie de bolsa encima de el cargada de polen. La **antera** que es la estructura superior donde están encerrados los granos de polen.

**El gineceo** El **carpelo** es la parte femenina reproductora de la flor. Es una hoja que se ha modificado y que aún conserva su color verde. Consta de las partes siguientes: El **estigma** que esta situado en la parte superior en forma de receptáculo para recoger el polen. El **estilo** que sirve de tubo conductor hacia el ovario. El **ovario** que es la parte inferior más amplia y donde se encuentran los óvulos que han de ser fecundados por el gameto masculino.

**El eje floral:** Es la estructura que soporta las partes de la flor. Además de soportar las piezas florales protege los óvulos de los animales. Tiene forma de copa y se llama **tálamo** receptáculo. Entre éste y la ramita se encuentra el **pedúnculo** (Martínez, 1999).

## Polen y agentes polinizadores

Los pólenes constituyen el vehículo del gameto masculino de las plantas, que necesita ser transportado hasta el gameto femenino para fecundarlo. Para asegurar la supervivencia. La planta se vale fundamentalmente de dos estrategias en función de las cuales se pueden clasificar en: Anemófilas, Entomófilas.

Los granos de polen son estructuras microscópicas, de 10-60 micras ( $\mu\text{m}$ ) de diámetro, por lo general redondeadas u ovaladas, en cuyo interior se encuentra el material reproductor. Para proteger dicho material, el grano de polen está recubierto por dos membranas protectoras: una externa (llamada **EXINA**) y otra interna más delgada (llamada **INTINA**)

Tanto la intina como la exina no son murallas infranqueables, ya que tienen que dejar pasar el material genético cuando la planta es fecundada. Ello ocurre a través de los **POROS**, o a través de surcos alargados (llamados **COLPOS**) (Negro, 2004)

Dependiendo del número de Poros que tenga un polen, se puede clasificar en Monoporado, Biporado, Triporado, Multiporado, etc., y si lo que tiene son Colpos, en Bicolporados, Tricolporados, etc. Con frecuencia los pólenes tienen a la vez Poros y Colpos, y en este caso se denominan Colporados (Monocolporados, Bicolporados, etc). Algunos pólenes no tienen poros ni colpos visibles, y se llaman "Inaperturados". Todo ello ayuda a distinguir al microscopio los distintos tipos de polen. Espiculado (con espinas), reticulado (en forma de red), granuloso, verrugoso. Además, la Exina (superficie exterior) tiene una textura y un relieve superficial muy diverso, y se tiñe fácilmente con colorantes, lo cual asimismo sirve para distinguir los pólenes al microscopio. Hay muchas otras texturas como verrucosa, estriada, foveolada, perforada, rugulada, etc

Para conocer el polen específico de cada planta es necesario aislarlo de plantas en el campo y en el laboratorio procesarlo para tener la certeza de su procedencia. Esto tiene una aplicación en la determinación de alérgenos de

personas y animales, en criminología, en el conocimiento de los cultivos visitados por las abejas a través de su polen, en la procedencia de la miel de abeja , entre otros.

**Anemófilas** (del Griego anemos = viento) se fecundan por medio del viento. Estas suelen ser plantas que no poseen flores vistosas (puesto que no tienen que atraer a los insectos), y se valen del viento para poder reproducirse. Por ello, suelen tener pólenes de pequeño tamaño, que se desprenden con facilidad y en grandes cantidades de la planta en cuanto sopla algo de aire y que son capaces de volar muy lejos (aerovagantes), permitiendo así la fecundación a distancia de otras plantas de su especie.

**Entomófilas** (del Griego entomos = insecto) se reproducen por medio de los insectos. Estas suelen ser plantas con flores llamativas y vistosas, para atraer los insectos, y su polen suele ser bastante pegajoso. Así, cuando un insecto (ej: abejas) se posa en la flor para libar el néctar, el polen se queda pegado a los pelillos de las patas de la abeja. Cuando el insecto se posa en otra flor, deposita en ella el polen que lleva pegado, fecundando así la planta (Unidad de alergia Infantil Hospital La Fe 2002).

### **Identificación del polen**

Hay muchas razones por las cuales se necesite identificar el polen en un estudio de polinización. Las colectas de polen de visitantes de flores puede proveer poca evidencia para la variedad de especies visitadas. La identificación del polen en estigmas pueden indicar si la mayoría de los depósitos de polen son con específicos o la potencial obstrucción de patrones por pólenes de otras especies, el polen alelopático o de otros efectos semejantes. La identificación de polen es muy importante en estudios de patrones temporales de machos y hembras en polinización.

Los estudios realizados en pólenes anemófilos dan origen a la necesidad de la identificación de especies representativas en pólenes simples y ver



porcentajes de diferentes tipos de polen y su determinación alergénica en el aire. La identificación del polen facilitada proporciona una relación de la flora y del clima del pasado (Unidad de alergia Infantil Hospital la Fe 2002.)

El polen de diferentes especies de angiospermas puede ser muy distintivo y la identificación es basada en muchas características de tamaño, estructura y número y posición de poros. El polen puede ser identificado con material preparado o fresco. En trabajos con material fresco, uno debe de pensar en preservar el grado de hidratación del polen pues influye en el aspecto y debe de ser controlado . Medir los granos de polen en seco de forma elipsoidal y exponerlos a humedades relativas mayores de 75 %. El polen absorbe agua y se hacen mas esféricos. Estos volúmenes son calculados con la ecuación  $V=4/3\pi a^2b$  cuando "a y b" son el diámetro mayor y menor respectivamente. La hidratación produce únicamente pequeños cambios en volumen, pero la adición de medios nutrientes causa cambios tanto en forma como en volumen.

Las colecciones de referencia de polen son con frecuencia preparados con acetolisis. La acetolisis remueve el protoplasma y otros problemas asociados con la hidratación dejando, únicamente la exina. Estas técnicas fueron desarrolladas en palinología, el estudio de la estructura, formación, dispersión y preservación de granos de polen y esporas. La palinología se preocupa por la preservación adecuada de la exina, como el polen microfossilizado que puede indicar climas y flores pasados. Las palinología emplean terminología especializada describiendo la estructura, escultura y morfología de los granos de polen (Kearns y Inouye, 1993).

### **Caracterización de mieles a través del estudio del polen**

La identificación del polen contenido en las mieles, y también la cantidad y calidad de éste transportado en las patas de las abejas, abrió una nueva vía de acceso a nuestro conocimiento de las preferencias alimentarias de estos insectos. Pero además, la clasificación del polen contenido en las mieles producidas por las abejas melíferas, permitió caracterizar y diferenciar los distintos tipos de mieles; hecho que tuvo importantes consecuencias económicas. De este modo los

conocimientos básicos, derivados de la investigación científica, tuvieron una rápida transferencia al sector productivo.

Cuando el polen madura en el interior de las *anteras* de las flores, estas se abren y el polen cae “mezclándose” el néctar. Esta mezcla aumenta cuando las abejas, al libar el néctar, se ponen en contacto con los componentes de las flores principalmente con las anteras. El grado de mezcla depende en gran medida de la forma de las flores.

Cuando las abejas liban el néctar incorporan también el polen que este contiene; esta mezcla pasa al *intestino anterior* del insecto y de allí al panal sufriendo la serie de transformaciones químicas que originan la miel.

Las diferentes especies vegetales poseen, en líneas generales, un tipo de polen que las caracteriza. Por este motivo, la identificación del polen de las mieles permite conocer qué plantas proporcionaron el néctar que se utilizó para formar la miel. Por otro lado, el recuento y la clasificación del polen, en categorías preestablecidas, permite inferir la intensidad con que fueron utilizadas distintas plantas. A esta determinación del origen del polen se la designa con el nombre de *origen botánico* de las mieles.

La observación, mediante el microscopio óptico, de un preparado de polen de miel muestra un mundo de formas que es necesario identificar. Esta etapa exige conocer previamente la flora de la región donde se ha producido la miel, así como los períodos de floración, y la forma del polen de la mayor cantidad posible de especies de dicha región, fundamentalmente de aquellas cuyo polen se encuentra en las mieles. Es un hecho conocido que las Asteráceas (familia de los cardos, girasol, etc.), las Fabáceas (familia de los tréboles, alfalfa, melilotos, algarrobos, etc.) y las Brasicáceas (familia de la mostacilla, nabo, etc.), son intensamente visitadas por las abejas melíferas en diversas partes del mundo. Es por eso recomendable que se reconozca e identifique el polen proveniente de estos grupos vegetales, antes de iniciar su análisis en las mieles.

Se ha propuesto clasificar los granos de polen de las mieles en cuatro clases o categorías, llamando *polen dominante* a aquel que se encuentra en un porcentaje superior al 45 % del total, *polen secundario* al que constituye del 15 al 45 % del polen total, *polen de menor importancia* al que representa del 3 al 15 % del total y *polen en traza* al que está presente en un porcentaje inferior al 3 % del total.

La presencia de polen dominante caracteriza a las mieles *monoflorales* (provenientes de modo predominante de un único tipo de flor) en cambio, cuando ningún tipo de polen representa el 45 % del total, la miel que lo contiene es clasificada como *mixta, multi o polifloral* (proveniente de muchos tipos florales). Estas categorías fueron establecidas a partir de minuciosos trabajos de investigación, realizados en el continente europeo, sobre la riqueza de polen en néctar vinculándolo a la forma y biología de las flores de diferentes plantas productoras de miel, y también al estudio de las mieles monoflorales producidas en condiciones experimentales.

A medida que se avanzó en estas investigaciones, se concluyó que la asignación del 45 % del total de polen como criterio para definir a una miel como monofloral, debía modificarse en el caso en que las mieles provengan de plantas cuyas flores son pobres en polen (como sucede con diversas variedades de cítricos), o que poseen una particular biología floral (como es el caso de la alfalfa), y también para aquellas plantas cuyas flores son ricas en polen como sucede con el eucalipto o el castaño.

Cada tipo de miel monofloral, es decir con predominio de un tipo de néctar, está definido por una serie de características organolépticas, físico-químicas y palinológicas. La primera de estas características, que incluye el aroma, color y sabor, posibilita al consumidor optar entre las diferentes variedades de miel. En esto reside la importancia económica de las mieles tipificadas, ya que la tipificación permite agregar valor al precio del producto.

A los fines comerciales, también es importante definir el *origen geográfico* de las mieles; aquellas que son producidas en diferentes regiones poseen un conjunto de tipos de polen que evocan la región de procedencia. Esos granos de polen, que rara vez se encuentran en porcentajes elevados; actúan como verdaderos “marcadores” geográficos permitiendo una denominación de origen para las mieles tal como sucede con otros productos alimenticios. Las mieles clasificadas por la región de origen, también son comercializadas con valor agregado como sucede con la miel de Alcarria en España.

En los últimos años, la demanda de productos naturales diferenciados por su calidad ha aumentado y entre esos productos se encuentra la miel. En la actualidad, las mieles tipificadas por su origen botánico y geográfico, tienen fuerte demanda en países tradicionalmente consumidores de miel, como Japón y Alemania, y también en otros donde el consumo de este producto no era relevante hasta ahora como en los países árabes. En este contexto, el estudio del polen de las mieles ha cobrado mucha importancia.

En países del hemisferio norte, principalmente europeos, los estudios del polen de las mieles tuvieron un intenso desarrollo hace varias décadas. Diversos trabajos de investigación básica permitieron conocer el origen botánico y geográfico de las mieles, haciendo posible la práctica de una apicultura orientada a la obtención de productos diferenciados y de mayor calidad. Actualmente en esos países, la tipificación de las mieles se ha incorporado como una rutina propia a la cadena de producción y comercialización (Tellería , 2001).

El análisis polínico de una miel comprende dos etapas. La primera es la identificación de los granos de polen observados. La segunda será su recuento. La identificación no se puede hacer más que por comparación de la morfología y las dimensiones de los granos de polen observados con aquellos granos conocidos que constituyen las referencias. Éstas pueden ser microfotografías, sobre papel o numerados; son un banco de datos que se pueden consultar por comparación. Las fotografías no son útiles a no ser las de calidad y tomadas en

diferentes planos, sólo así se tiene una visión espacial del polen. Es igualmente necesario conocer la escala de la fotografía. Desgraciadamente la mayoría de los documentos son poco fiables a causa de su mala calidad. Un pequeño consejo : no buscar referencias en ciertos dibujos que se pueden encontrar en antiguos libros de apicultura. Son muy imprecisos y contienen errores flagrantes.

Ningún documento es tan bueno como para reemplazar la realidad. El melisopalinólogo debe confeccionar él mismo su colección polínica de referencia a partir de pólenes recolectados de las plantas y montados en láminas y laminillas. Ciertamente que es un trabajo largo. Nunca se acaba pero presenta múltiples ventajas: de una parte poseer una colección de pólenes que permite una identificación precisa y además, después de numerosas salidas al campo que serán necesarias para recolectarlos, identificar las flores melíferas y situarlas en su entorno, entorno que será también el original para el espectro polínico de las mieles que serán producidas. El análisis polínico de mieles no es solamente una ciencia de laboratorio sino que sobre todo es una ciencia de campo cuya comprensión global permitirá captar correctamente la verdadera naturaleza de la miel y las posibilidades de análisis polínico en los dominios de la búsqueda del origen botánico y geográfico de mieles.

Luego de todos estos elementos es evidente que para hacer análisis polínico de mieles, es indispensable tener buenos conocimientos de botánica y de taxonomía vegetal. La identificación precisa de especies florales es naturalmente indispensable (Schweitzer, 2002).

### **Preparación para observar el polen**

**Microscopio de luz:** El microscopio de luz ha sido el promedio estándar de observación de polen fresco, polen acetolizado y montajes de polen en varias montajes y medios de montaje.

**Acetolisis:** La acetolisis es una manera de preparación de granos de polen provenientes de depósitos orgánicos esta se basa en el hecho de que la exina de

muchos granos de polen es sumamente resistente a los ácidos fuertes y a las bases de menor grado, tanto que tratar una muestra que incluye otras impurezas orgánicas disolverá el material extraño y no afectará a los granos de polen. Las mismas técnicas pueden ser usadas y con especímenes de herbario o simplemente frescos es una forma para la preparación de colecciones de referencia.

El método y la exina deben ser muy limpios para analizar los granos de polen para estudios de escultura en el microscopio de luz o el microscopio electrónico (ME), aunque los pequeños granos se colapsan a veces en el vacío del ME.

El método además puede ser usado en simples preparaciones desde intestinos de insectos o capullos de abejas y hasta simples anteras o estigmas, así como el tratamiento para disolver otros tejidos y materiales extraños y dejando los granos de polen ilesos.

Algunos granos de polen de taxa son a menudo destruidos o dañados por excesiva acetólisis incluyendo el género *Populus* (Salicaceae) y familias de *Laureaceae*, *Ceratophyllaceae*, *Juncaceae*, *Thruniaceae*, *Rapateaceae*, *Cannaceae*, *Musaceae*, *Zingiberaceae* y *Zannichelliaceae*. Para esta taxa métodos semejantes son la cloración o el calentamiento en dilución (25%) de carbonato de potasio o carbonato de sodio como alternativas (Kearns e Inouye, 1993).

## **Materiales y métodos mas utilizados ( Kearns e Inouye, 1993)**

### **MATERIALES**

- Ácido acético glacial
- Ácido sulfúrico concentrado
- Agitador de cristal
- Agua destilada
- Anhídrido acético
- Baño María
- Campana de extracción
- Centrifuga
- Etanol al 70%
- Glicerina 1:1
- Hidróxido de potasio
- Micropipetas
- Muestra de polen
- Placa de calentamiento
- Tubos para centrífuga
- Vaso de precipitado
- Vortex

### **Mezcla de acetolisis**

Preparar la mezcla fresca todos los días usando una campana de extracción; añadiendo 9 partes de anhídrido acético o 1 parte de ácido sulfúrico concentrado; añadiendo muy lentamente el ácido anhídrido (una gota cada vez). Es una precaución debido a que causa una reacción exotérmica, colocar el anhídrido en una jarra en un bote con agua fresca añadiendo en este el ácido. La mezcla puede ser almacenada en un vaso de precipitado de plástico.

### **Para especies de herbario**

- 1.- Moler flores secas o estambres a través de una pequeña malla para tamizar tomándola por encima de un embudo.
- 2.- Limpiando la planta de polvo dentro de un tubo de centrífuga para la solución de acetolisis pipeteando una gota cada vez .
- 3.- Llenar los tubos de centrífuga de 5 ml con mezcla de acetolisis y seguir como en el material fresco comenzando con remover y calentar en un balde de agua con una campana de extracción

### **Para material fresco**

1.-Añadir directamente las anteras en un tubo de vidrio conteniendo ácido acético glacial. Estas deben de ser dejadas un mínimo de unas pocas horas pero también pueden ser guardadas por muchos años.

2.- Tirar el ácido y añadir unos pocos mililitros de mezcla de acetolisis. Usar una barra de vidrio para moler las anteras contra la pared y liberar los granos de polen .

3.- Transferir el fluido de acetolisis y la mezcla del material a un tubo de centrífuga.

4.- Añadir de 5 a 10 ml de mezcla de acetolisis en el tubo de centrífuga, remover con una barra de vidrio y el tubo se calienta en baño María (dentro de una campana de extracción). Si esto comienza con un Baño María a la temperatura ambiente y se calienta lentamente a  $70^{\circ}\text{C}$  y se quitan los tubos después de 1 a 2 min a  $100^{\circ}\text{C}$ . Si el balde del agua esta ya con agua hirviendo tu metes el tubo dentro, y lo dejas por otros 15 min remover el contenido del tubo con una de barra de cristal algunas veces durante el proceso de calentamiento. Si se rompiera el tubo de la centrífuga mientras esta en el baño María, la reacción resultante es que puede salpicarse alrededor.

5.- Los tubos se enfrían por unos pocos minutos y otra vez a la centrífuga (aproximadamente a 2400 RPM ). Se recomienda rellenar el hoyo con pequeños pedazos de algodón en lo mas bajo del tubo de la centrífuga protegiendo el recipiente a los tubos de vidrio y absorbiendo el liquido de los tubos rotos o quebrados.

6.- Tirar la mezcla de acetolisis.

7.- Añadir 5 ml de agua destilada y limpiar el sedimento del tubo por sacudimiento en un Vortex; si el Vortex no esta disponible remover con una barra de vidrio. (aclarando y centrifugando con ácido acético glacial anterior al agua destilada el ácido no es necesario).

8.-Después remover o agitar la mezcla, añadir 5 ml mas de agua destilada, centrifugando y tirando el agua.

9.-Agregue el agua destilada de nuevo, revuelva y entonces vierta el agua a través de una malla de acero (o bronce) limpia en un tubo de centrífuga limpio



para filtrar las partes de anteras, etc. Si se tiene acceso a una gran variedad de tamaños de malla, puede seleccionar la malla clasificándola según el tamaño del grano del polen de la muestra; por otra parte una malla de 0.14 mm cuadra bien los tamaños.

10.-Centrifugar la muestra y vierta fuera el agua. El próximo paso dependerá de lo que usted piensa hacer con los granos de polen que tome. Si usted piensa hacer los montajes permanentes con gel de glicerina bajo el microscopio usar la 11<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup>., Si se esta preparando polen para el almacenamiento húmedo o para análisis ME, usar pasos 11b y 12b.

a) Si usted encuentra en el examen que hay todavía material extraño o mixto en los granos de polen, usted puede agregar 5% KOH al tubo de la centrífuga, hervir durante 5 minutos en un baño Maria. Centrifugar y entonces vierta la solución fuera.

b) Si los granos de polen se han puesto oscuros por acetolisis, pueden blanquearse para facilitar su examen de detalles de la exina. Agregue (en una campana de extracción) 2 ml de ácido acético glacial, de 2 a 3 gotas de solución de clorato de sodio saturado y de 1 a 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. Revuelva la mezcla con una barra de vidrio durante un minuto o menos (como el cloro se suelta en la mezcla),centrifugar y verter el liquido lavando la muestra dos veces con agua destilada.

11.-a) Agregue aproximadamente 12 gotas de glicerina: Mezcla de agua (1:1). Dejar que la mezcla repose por lo menos 15 min , centrifugar, verter fuera el liquido, y entonces ponga los tubos al revés en papel filtro o una toalla de papel para escurrirlos por 2-24 horas.

b) Agregue aproximadamente 12 gotas de agua: Mezcla de etanol (3:1). Dejar la mezcla reposando por lo menos 15 minutos, centrifugar, verter fuera el liquido, y entonces ponga los tubos al revés en papel filtro o una toalla de papel para escurrirlos por 2-24 horas.

12.-a) Vea la descripción de cómo preparar los montajes en glicerina.

b)Para el almacenamiento húmedo o para preparar los especimenes para ME, agregué 3 ml de etanol al 70%, agitarlo bien y transferir el frasco a un

almacenamiento. Pueden quitarse muestras para ME con una pipeta, depositándolo en un matraz y dejarlo para que el alcohol se evapore.

### **Montajes con glicerina**

Esta técnica se desarrollo para usarse con muestras preparadas con acetolisis, pero también funciona con las muestras no preparadas. También se puede usar este procedimiento para aplastar los estigmas para contar el polen. A la glicerina puede agregarse color si se desean los granos de polen coloreados.

#### **Materiales necesarios**

Muestra de polen

Portaobjetos

Cubreobjetos

Parrilla eléctrica 100<sup>0</sup>F o mechero Bunsen o lámpara de alcohol

Microscopio de disección

Gel de glicerina

Fórceps y aguja

Glicerina líquida (Glicerol)

- 1.- Lavar dos portaobjeto y un cubreobjeto para la muestra (por ejemplo, lavar con detergente y enjuagar con etanol al 70%).
- 2.- Si la muestra de polen se guarda con etanol al 70%, ponga una gota de glicerina líquida en el portaobjeto y mezcle una gota de polen en la suspensión. Deje que la mezcla se asiente y se evapore por aproximadamente 10 minutos.
- 3.-Limpie la punta de una aguja de disección lavándola en alcohol o calentándola en una flama.
- 4.-Pesque (aproximadamente 2 mm<sup>3</sup> ) de gel de glicerina sólida (que pueda contener colorante) en la punta de la aguja.
- 5.-Tocar el pedazo de jalea con mezcla de glicerina –polen en el portaobjeto para meter la jalea con polen. Si la muestra de polen todavía esta en el fondo del tubo de la centrífuga (la acetolisis siguiente), toque con la punta el polen.

6.-Coloque el pedazo de gel con polen en el segundo portaobjetos limpio, aproximadamente 2.5 cm de un extremo del portaobjetos (dejando una cuarta parte para la etiqueta en el otro extremo).

7.- Calentando el portaobjeto suavemente en un parrilla o encima de una flama (mechero Bunsen o lámpara de alcohol) hasta fundir la jalea. No permita que el gel de glicerina hierva, porque introduciría las burbujas de aire que son difíciles de quitar.

8.-Colocar el porta objetos bajo un microscopio y extendiendo los granos de polen fuera revolviéndolos mientras con el gel cuidadosamente con una aguja limpia.

9.-Recostar el porta objetos suavemente y bajando el cubreobjetos cuidadosamente encima de la jalea fundida. La jalea debe formar un circulo de 2-3 mm de diámetro.

10.-Para las muestras permanentes usted puede sellar la muestra bajo el cubreobjeto con cera de parafina. Esto previene que la glicerina se convierta en gel seco afuera y guarde mohos u hongos creciendo en el. Sin embargo, incluso sin sellar las muestras duran por un largo tiempo. Ponga un pedazo pequeño de parafina en el portaobjetos aun lado del cubreobjetos., Caliente el portaobjetos para fundir la cera para que sea arrastrada bajo el cubreobjetos y rodee la jalea de glicerina. Si hay burbujas de aire atrapadas bajo el cubreobjetos se calienta de nuevo suavemente la muestra hasta que se desaparezcan.

11.- Mientras que la muestra esta caliente todavía, póngala en una posición boca abajo eso le ayudara para ambos fines, sin dejar nada referente a cubreobjetos. Esto permitirá que el polen se coloque casi en el cubreobjetos mientras que la jalea esta fundida aún.

12.-Raspar el exceso de cera de afuera de la muestra con una navaja de afeitar. Limpie la muestra con xileno si es necesario(en una campana de extracción ).

13.- Etiquetar la muestra.

### **El método Hoyer**

Un medio alternativo para hacer la referencia de las preparaciones es el medio de Hoyer. Este montaje produce un medio sellado en donde, los granos de polen están totalmente extendidos.

### Materiales necesarios

- 50 g de agua destilada
- 30 g Goma arábica
- 200 g Hidrato de cloro
- 20 g Glicerina

- 1.-Remojar la goma arábica en agua durante 24 horas.
- 2.-Agregue hidrato de cloruro. Deje la solución hasta que el hidrato de cloro sea disuelto completamente (esto puede tomar varios días).
- 3.-Agregue la glicerina y el medio esta listo para montar el polen.

En un estudio de flores visitadas constantemente por abejas meliponas *Hybanthus pronifolius* (Violaceae).

Se monta el polen quitado de 10 abejas en el medio Hoyer y se examinan 500 granos por abeja. Ya que el polen de *Hybanthus* tiene una forma muy distintiva y pude determinarse que el 99.7% de los granos de polen en las abejas pertenece a esa especie.

### Medio de montaje con polivinil lactofenol.

El polen puede ser montado permanentemente en el polivinil lactofenol este es un medio en base de agua y los granos no necesita ser deshidratados. Puede ser adquirido o elaborado con:

- 1.-Prepara y la solución stock : en un baño de agua, disuelva 15 gramos de alcohol polivinilo (viscosidad 24-32 centipoise) en 100 ml de agua destilada.
- 2.- Mezcle 56 ml de solución stock , 22 ml de ácido láctico y 22 ml de fenol.
- 3.-Guardar esta solución clara en un recipiente oscuro. El azul de anilina puede agregarse directamente a este medio de montaje.

### Revisión para microscopio electrónico

La revisión con el microscopio electrónico (ME), esta usándose cada vez mas para el registro y detalles del estudio de la superficie del polen. El (ME) puede realizar estudios de polen fosilizado limpio, material acetolizado. Muchos

estudios de polen vivo que han usado el mismo proceso que permite la comparación de los tipos de polen modernos y antiguos. Sin embargo debido a que el polen acetolizado ya no tiene intina ni contenido celular a menudo se colapsa en el vacío de el ME. Además la acetolisis destruye estructuras que pueden ayudar a la identificación. Una técnica para el uso de el polen vivo que previene que el polen se colapse, retiene las estructuras y proporciona buenos detalles de la superficie de la exina. Este método de preparación de material fresco de polen para el microscopio electrónico:

- 1.-El polen centrifugado (1:1) acetona: agua destilada.
- 2.-Después de una hora en una solución de acetona, ponga el tubo de centrifuga en un baño ultrasónico durante 1 minuto reemplace el fluido con acetona y agua fresca y déjelo reposar otra hora para quitarle los restos de polen.
- 3.-Enjuague el polen con agua destilada por 10 minutos y repítalo a través de una serie de deshidratación etanólica. Deje que el polen repose al final en el etanol al 100% por 4 horas mínimo.
- 4.- Reemplace el etanol con amilo acético y deje que repose por lo menos durante 1 hora.
- 5.- El punto critico de el polen seco con el anhídrido carbónico .
- 6.-El polen montado en portaobjeto para el espécimen se aplasta usando un microfijador.
- 7.-El polen es cubierto con 300 Å de oro: Paladio(60:40).
- 8.-Examinar con un ME usando un ETC autoscan ME con aceleración de voltaje de 10 KV y de 7-8 mm de distancia activa.

Para SEM el material de polen de herbario, se usa el siguiente procedimiento:

- 1.-Remover flores o anteras de las hojas del herbario y en lugar de ellos una solución acuosa al 3% de aerosol-OT (un detergente biológico ) hasta que el tejido sea flexible (2-3 horas).

- 2.-Bajo un microscopio, quite el polen de las anteras, tomarlo con cuidado para mantenerlo libre ajeno de los restos de tejido. Usar una pipeta limpia succionando el polen con un portaobjetos de disección de depresión.
- 3.-Colocar el polen en tubos de 15 ml de centrifuga y ponerlos en la solución aerosol-OT por mas de 5 días completamente rehidratados.
- 4.-Pipetear la solución aerosol-OT de los tubos y agregar agua destilada por 10 minutos.
- 5.-Remover el agua y pasar al paso 1 para el material fresco.

Otra técnica de prepara el polen para SEM que involucra arreglando las anteras con vapor de tetróxido de osmio ( $O_5O_4$ ). Con este procedimiento, los restos de polen permanecen intactos y los granos de polen retienen su estructura de abertura y estado natural de hidratación.

- 1.-Agregar las anteras fresca en una caja Petri que contiene unas gotas de  $O_5O_4$  al 2% (las anteras no pueden tocar el liquido ). Cerrar la caja y ponerlo en una campana de extracción. Nota: El tetróxido de osmio es toxico y los vapores pueden causar ceguera. Usarse con extrema precaución.
- 2.-Las anteras se montan en ME en tubos con cemento de carbono conductivo.
- 3.-Los vapores del carbono encendido aplastan y cubren rociando el oro y el paladio (3 nm de espesor).

Un micromanipulador que puede construirse y puede montarse a un objetivo del microscopio con el fin de colocar la exina de polen precisamente en la posición para ME. Cubrir con un cubreobjetos de vidrio con cinta adhesiva y colocar el polen en el cubreobjetos con la punta de un pelo del micromanipulador. Se juntaran muchos granos de polen al cubreobjetos que se ató a una colilla de ME y colocado con 100 Å de oro-paladio para ME. El adhesivo se usa adelante del cubreobjetos que debe ser bastante pegajoso para tirar el polen del pelo, se fija bastante para que el polen no se empotre, transparente y resista el calentamiento en vacío usando vapor cubriendo el polen para ME. Después de probar 23

adhesivos, se encontraron que el mejor era el adhesivo de cloruro de polivinilo SV229CL. ( Kearns e Inouye, 1993).

### Tamaño de polen

El tamaño es una característica importante para identificar el polen. Muchas especies tienen un rango de tamaño limitado. Una excepción del rango del tamaño limitado ocurre en las especies heteromorfas (con más de una forma). Los tamaños diferentes de polen pueden presentar oportunidades para los estudios de dispersión del polen.

El tamaño de polen puede clasificarse como:

Muy pequeño	<10 $\mu\text{m}$
Pequeño	10-25 $\mu\text{m}$
Medio	25-50 $\mu\text{m}$
Grande	50-100 $\mu\text{m}$
Muy grande	100-200 $\mu\text{m}$
Gigante	>200 $\mu\text{m}$

Los diámetros de polen van de 5  $\mu\text{m}$  a más de 210  $\mu\text{m}$ , encontrándose la mayoría en un rango de 15-60  $\mu\text{m}$ .

El polen fresco colectado generalmente por las abejas cae en el rango de 10-100  $\mu\text{m}$  con un promedio de 34  $\mu\text{m}$  también presenta datos en el rango de tamaño de granos de polen para varias especies.

Los granos de polen pueden ser medidos por un micrómetro ocular de un microscopio. Normalmente, muchos (por ejemplo varios cientos de plantas diferentes) granos son medidos expandidos totalmente a lo largo en los dos planos ecuatorial y axial, el polen fresco puede ser suspendido en una mezcla de ácido láctico y glicerina (3:1) y montado en un portaobjetos para ser medido. El tamaño de polen preparado de esta manera no es afectado por la cantidad de tiempo que está el polen en la suspensión, por lo que puede medirse días después. Si los granos de polen han estado secos, ellos pueden ser rehidratados

y montados en el medio Hoyer antes de medir. El polen montado en glicerina continuara expandiéndose durante varios días, las medidas deben hacerse después de la estabilización.

El tamaño del grano del polen dañado también puede ser calculado con una medida basada en la clase del tamaño del daño medido con el Contador de Coulter. Este método es potencialmente mucho mas rápido que las medidas ópticas.

Los granos de polen también pueden ser medidos electrónicamente en una balanza produciendo una línea hecha por un microscopio electrónico.

Se puede medir el diámetro del polen, o la longitud del eje para formas no esferoidal, se pueden usar las formulas trigonométricas simples para calcular el volumen. La superficie de los granos de polen de caras esféricas y prolongadas y obloides esferoides pueden determinarse los volúmenes usando tablas desarrolladas para la industria de la fruta .

### **Colecta de polen**

La colección cuidadosa de muestras de polen es un aspecto importante de muchos estudios de polinización. Las colecciones de polen anemófilo muestran cuando es la liberación de polen, proporcionando una indicación de la fenología de las flores, la abundancia del polen en el aire, y un registro de las especies alergénicas presentes. El polen de las anteras es rutinariamente colectando para preparar las referencias de la colecciones, probando la viabilidad, y para realizar las polinizaciones manuales. El polen también puede ser removido de los polinizadores para determinar cuantas especies visitan ellos, la magnitud de las cargas que ellos llevan, y la ubicación de la superficie del cuerpo que contactan las anteras. Con la determinación de las proporciones óvulo-polen, o la distribución de la función del macho, contando la cantidad total de polen por flor o por antera que pueden ser requeridos. Con la determinación de cantidad de polen removido, el polen removido en anteras después de ser visitados por insectos pueden ser comparados con los conteos de flores intactas. Todas estas operaciones requieren la colección cuidadosa de polen.



## **El polen de plantas Anemófilas-Trampas Pegajosas**

El polen aerotransportado puede ser colectado con trampas de polen o muestreadores aéreos. Existen varios métodos diferentes y muestreadores para colectar las partículas aerotransportadas. Las trampas de polen consisten de superficie pegajosa plana, a la que el polen se adhiere. Estas pueden ser preparadas en portaobjetos cubiertos con gel de petróleo para el microscopio, glicerina o cinta limpia. Los granos de polen capturados son identificados por comparación con portaobjetos preparados de especies conocidas. Las densidades son determinadas contando los granos de polen colectados en un periodo de tiempo limitado. Un problema con estas trampas es la precipitación o el rocío pesado que puede lavar el polen fuera del portaobjetos o empotrado en el sustrato, haciéndose difícil la identificación.

Varios tipos de muestreadores aéreos están disponibles. Los muestreadores pueden ser puestos en las praderas abiertas libres de obstrucción que puedan influir en la captura de polen, o a nivel del dosel para probar el polen del árbol. Muestreando el polen de un árbol en 7 días, con tambor del muestreador de esporas que puso al nivel del dosel. Estos aparatos colectan con la cinta de celofán de doble cubierta envuelta alrededor de un tambor de 15.24 cm. El tambor gira mas allá abriéndose en el cuerpo del aparato a una velocidad uniforme, mientras permite la determinación del polen colectado por unidad de tiempo. El cuerpo del muestreador gira para que la apertura se dirija siempre al viento. La bomba de vacío mantiene la succión y el aire puede ajustar las proporciones de flujo de 0.5-28.3 litros. Se usa el muestreador para colectar el polen a intervalos de 20 minutos durante 17-21 días en varias posiciones.

Las densidades relativas de polen son calculadas promediando los conteos durante 7 días máximo en cada posición. Las trampas de polen hechas de plexiglas de 20X20 cm cubiertas con gelatina-glicerina al 5 %. Son expuestas de media noche a 6 A.M. y evitan la actividad de polinización de los insectos. Durante este periodo de tiempo, ellas colectan el polen de los estigmas.

Los muestreadores Rotorod tiene cabezas colectoras retráctiles con barras que son cubiertas con grasa de silicio. Las barras pueden ser quitadas al final probando el intervalo deseado, pintado con color Calbela, y examinando el polen bajo el microscopio y las esporas de hongos. Estos puede poner un ciclo a 2400 rpm de un segundo a un periodo de tiempo dado ( por ejemplo, con un 5 % de periodo cíclico, la fuerza del muestreador para coleccionar el polen es de 45 segundos cada 15 minutos, muestreado por encima de los 3000 L de aire por día). El tamaño del Rotorod y el tamaño del polen afecta la eficiencia de la muestra.

Para determinar si el polen es aerotransportado, se puede poner un portaobjetos de vidrio para microscopio cubierto con glicerol en el área de la planta por ejemplo:

Se ponen los portaobjetos cubiertos con glicerol a 2 pies a intervalos de las plantas de prueba en el campo y después se examinan los portaobjetos con el polen de esa especie.

### **Colecta de anteras**

Varias técnicas permiten quitar el polen de las anteras. Algunas de estas son apropiadas únicamente para ser contadas en colecciones o examinadas en microscopio; otros colectan polen vivo para usarse en polinizaciones manuales.

1.-Quitar la sacos polínicos.

2.-El polen puede ser colectado directamente de las plantas anemofilias para la prueba de viabilidad del polen, la polinización manual, o cuantificación del polen. Empaque los amentos antes de la dehiscencia del polen, o cortar las ramas productivas grandes y guardar en el laboratorio hasta que el polen se liberé.

3.-Las vibraciones producidas por un diapasón pueden hacer que se suelte el polen por la vibración polinizadora de flores. Usando una frecuencia de 512-Hz se pone a punto el sonido de el diapasón. ( Nota: Una gota de Elmer's Glue-All, aplicado a los poros apicales de las anteras con un palillo, previene que el polen sea removido por el zumbido de las abejas o liberaciones de los sacos polínicos.

4.-Un método de alta tecnología de coleccionar el polen por la vibración para polinizar flores usar un tacómetro óptico de altavoz pequeño atado a una sonda de alambre que dirige la vibración de referencia de la frecuencia intermitente del tacómetro. La sonda se usa para vibrar anteras que entonces sueltan el polen / variando la frecuencia de 156-1076 Hz para quitar el polen de las anteras secadas al aire de flores.

5.-Las anteras coleccionadas recogidas con las pinzas poco antes de la antesis y se les pone polipropileno a pequeños tubos de centrífuga hasta que el polen se suelte. Dejar los tubos de centrífuga abiertos para inhibir la formación de moho. Agregar etanol al 70 % para preservar los granos hasta que ellos puedan contarse.

6.-Macerar las anteras sin abrir en agua de mar filtrada y diluir el volumen total 10 ml . Agitar la suspensión por 30 segundos y entonces filtrar a través de una malla de 50  $\mu$ m para quitar los restos de tejido.

7.-las anteras se ponen en frascos llenos de un medio líquido que ayude que el polen se quite completo.

8.-Las anteras coleccionadas por frotación de flores encima de una malla de 2 mm antes de la apertura de las anteras permita su apertura.

9.-Acetolisar las anteras abiertas, lavarlas para quitarles el ácido y el sobrante, y se reposan en etanol al 95 % hasta que ellos puedan contarse.

### **La cuantificación de polen**

Algunas de muchas razones porque los investigadores cuentan los granos de polen incluyen la estimación del rendimiento del reproductor masculino, comparación del género funcional de formas de plantas diferentes, la cuantificación de polen removido por una visita del polinizador, y estimación de niveles de polen alérgico aerotransportado.

La planta con el traslado del polen hace eficaz los mecanismos que producen menos polen que aquellos en que se gasta mucho polen. Sus datos coleccionados de aproximadamente 100 especies, indicaron una correlación entre

las proporciones polen-óvulo (los granos de polen por flores divididas por óvulos por flor) y sistemas de producción de planta.

Estudios palinológicos de las especies dominantes de la vegetación de los alrededores de la Laguna Madre, Tamaulipas, México, realizado por el Dr. Enrique Martínez 1978, incorporaron especies a la colección micropaleontológica del Instituto de Geología.

En el laboratorio del Instituto de Geología existen dos colecciones palinológicas; una de polen reciente llamada MODERN, la cual contiene 9024 ejemplares correspondientes a 4488 ejemplares de plantas a nivel de especie, y el resto son de estudios aplicados. La colección de polen fósil FOSILIA consta de 8136 ejemplares de diferentes estudios.

Los datos de ambas colecciones han sido sistematizados en una base de datos relacional empleando el programa ACCESS, esta base incluye datos nomenclaturales detallados de los ejemplares como son división, clase, orden, familia, género y especie, datos sobre georeferenciación, estado, municipio, latitud, longitud, en grados, minutos y segundos, altitud, datos de los colectores, procesadores, y en el caso específico de la colección FOSILIA se tienen datos sobre formación, edad, litología, afloramiento, nivel en la sección, profundidad en el caso de barrenos y datos específicos sobre las técnicas de procesamiento.

Así mismo, existen tipos de vegetación caracterizada palinológicamente, como es el caso de la flora de la Estación de Biología Tropical " Los Tuxtlas ", contándose con el 80 % de los árboles, arbustos, hierbas, lianas y trepadoras de la selva. También existe una buena representación de zonas áridas como son los matorrales xerófilos, los bosques de pino-encino y mesófilo de montaña, así como de vegetación acuática y subacuática del centro de México. Algunos estudios que describen la palinoflora de algunas zonas han sido objeto de publicaciones, como son las realizadas en regiones tropicales (Lozano y Martínez ,1990) y uno de zonas áridas (Lozano, 1979).

En años recientes se han desarrollado investigaciones sobre melisopalinología, de manera especial en las zona de Chiapas. Las identificaciones de polen contenidas en las mieles y en las cargas de polen de abejas nativas (*Nannotrigona*, *Scaptotrigona*, *Plebeya*, *Tetragonisca* y *Melipona*), provenientes de esta zona del país (Ramírez, 1989, 1995; Medina, 1989, 1994; Sosa, 1991; Melchor, 1990; Quiroz, 1993), así como de las abejas melíferas europeas y africanizadas, han sido realizadas a través de la colección de referencia. Asimismo están en proceso estudios sobre *Apis mellifera scutellata* (abeja africanizada) en las costas de Oaxaca y de *Scaptotrigona mexicana* en Cuetzalán, Puebla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Aislamiento e identificación del polen

El trabajo se llevó a cabo en la región Lagunera iniciando en la primavera del 2002 y a través del 2003 y 2004. Se colectaron las anteras de las flores de plantas silvestres, cultivadas y ornamentales para aislar el polen usando la técnica de acetolisis. La colección sirve de base como patrón de referencia para identificar la plantas por comparación del polen. Las plantas fueron fotografiadas, colectadas y secadas en prensa para conservarse en el herbario. Las muestras del polen se procesaron, montaron y observaron en un microscopio Olympus modelo BH-2, conectado a una pantalla de televisión. Cada grano de polen fue medido con un micrómetro ocular en el objetivo de inmersión en aceite 100X . Los granos de polen se fotografiaron a 40X y 100X con una cámara reflex Minolta SRT 101, lente Rokkor PF de 58 mm montada en un tripié utilizando película para diapositivas de color ASA 100, a una obturación de f/9 y ½ segundo de velocidad del diafragma. Se obtuvieron por lo menos dos imágenes a diferente ángulo y las diapositivas se digitalizaron en un escáner modelo 3500C HP .

### Época de floración de especies visitadas por las abejas

En el mes de junio de 2002 se colocaron 2 colmenas equipadas con trampa de polen en la Sierra del Sarnoso, en el Cañon del Soldado (1233 msnm, latitud Norte 25° 34' 19'' y de longitud Oeste 103° 36'47'') y su polen se colectó una vez por semana hasta mayo del 2003. El polen de las colmenas se mezcló , se tomó una muestra y se procesó por acetolisis de cada mes de 2002 al 2003 y se hicieron montajes permanentes para observar al microscopio. Se identificaron las especies presentes por comparación al patrón de referencia.

### Técnica para aislamiento de polen

#### Materiales requeridos

##### Reactivo

- Ácido acético glacial

- Ácido sulfúrico concentrado
- Anhídrido acético
- Agua destilada
- Glicerina 1:1

#### Materiales de laboratorio

- Baño Maria
- Campana de extracción
- Centrífuga de 2400 rpm
- Microscopio óptico
- Placa de calentamiento
- Vortex
- Criba de .14 mm cuadrados
- Cubreobjeto
- Esmalte
- Gradilla
- Lápiz punta diamante
- Matraz
- Micropipetas
- Pinzas para tubo de ensayo
- Porta objeto
- Probeta
- Tubos de centrifugación
- Vaso de precipitado de 500 ml
- Aceite de inmersión

#### Material biológico

- Muestra de polen

#### Mezcla de acetolisis

Se preparó la mezcla fresca cada día, utilizando la campana. Se agregaron 9 partes de anhídrido acético a 1 parte de ácido sulfúrico, se le agrego el ácido muy despacio (esto fue una gota cada vez) a el anhídrido. Como precaución, ya que esto causa una reacción exotérmica, se colocó el recipiente en un baño de agua

fresca mientras se fue agregando el ácido. La mezcla se guardó en una botella de plástico.

### **Procedimiento**

- 1.-En un tubo de ensaye se agregaron directamente las anteras con ácido acético glacial. Se dejaron unos minutos y se centrifugó por 1 minuto
- 2.-Se elimino el ácido acético y se agregó unos cuantos mililitros de la mezcla de acetolisis. Se usó una varilla de vidrio para aplastar las anteras contra la pared de vidrio para que se liberaran los granos de polen.
- 3.- Se agregaron unos 5-10 mililitros de la mezcla de acetolisis al tubo de centrifugar y se calentó en baño Maria. Se movió constantemente el tubo mientras se tenia en el baño Maria durante unos 2 minutos con el agua hirviendo (Aquí se hizo negro el contenido del tubo).
- 4.-Se enfrió el tubo unos cuantos minutos y se centrifugó otra vez otro minuto.
- 5.-Se elimino la mezcla de acetolisis.
- 6.-Se agregaron 5 mililitros de agua destilada y se lavo el sedimento poniéndolo a agitar en un Vortex (por unos segundos).
- 7.-Después de agitar se agregaron otros 5 ml de agua destilada, se centrifugó y se eliminó el agua. si se tienen partículas grandes de anteras colar en una criba delgada de bronce pasándola a un tubo limpio.
- 8.-Se centrifugó la muestra y se eliminó el agua
- 9.- Se agregaron unas 12 gotas de una mezcla de agua:Glicerina 1:1, se dejó reposar la mezcla unos 15 minutos ( se puede dejar menos tiempo e ir sacando gotas de la muestra para ponerse en portaobjetos con su respectivo cubre y se observa al microscopio). Se volvió a agitar en el Vortex y se hizo el montaje.

Ya que se tiene la laminilla se deja que salga el exceso del liquido y con el esmalte se sella para dejar el montaje permanente.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo inició el 04 de Octubre del 2002 y se finalizó el 13 de Mayo del 2003 . Se encontraron las familias de las especies vegetales: Agavaceae, Amaranthaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Cactaceae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Drupaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Fouquieriaceae, Malvaceae, Myrtaceae, Nyctaginaceae, Poaceae, Tamaricaceae, Verbenaceae, Zygophyllaceae. En el aislamiento del polen se encontraron 41 especies diferentes (cuadro1).

La mayoría son de plantas silvestres, algunas de las cuales son consideradas como malezas en cultivo de el algodón en la Comarca Lagunera ( Agundis, 1978) tales como correhuela perenne *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae), golondrina *Euphorbia micromera* (Euphorbiaceae), quelite *Amaranthus palmeri* (Amaranthaceae) y zacate chino *Cynodon dactylon* (Poaceae).

Aparece pocas cultivadas como son: Alfalfa *Medicago sativa* (Fabaceae), Ciruela *Prunus armeniaca* (Drupaceae), Girasol cultivo *Helianthus annus* (Asteraceae), Maiz *Zea mays* (Poaceae), Melón *Cucumis melo* (Cucurbitaceae), Pepino *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae) y Sorgo *Sorghum vulgare* (Poaceae).

En el caso del polen de ciruelo, a una distancia aproximada de 800 metros se encontraba un árbol plantado en una casa y en floración las abejas colectaron su polen. En el caso de las especies cultivadas que las abejas llevaron a las colmenas, de acuerdo con los planos cartográficos de INEGI (1999), el área cultivada se encuentra a un poco mas de 5 kilómetros distancia en línea recta que fue la recorrida por las abejas para colectar el polen de las flores. Esto supone un acarreo , en viaje redondo, superior a los diez kilómetros.

Las abejas melíferas pueden volar mas de 8 kilómetros de distancia en la búsqueda de alimento (vonFrish, 1976), pero las distancias grandes significan menos visitas a las flores durante el día.

**CUADRO 1 PLANTAS ENCONTRADAS A TRAVES DE LA COLECTA DE POLEN POR LAS ABEJAS. SIERRA DEL SARNOSO MPIO. DE GOMEZ PALACIO DURANGO 2002-2003.**

- 1,-Alfalfa *Medicago sativa* (Fabaceae)
- 2,-Amarilla, tulipán *Hibiscus coulteri* (Malvaceae)
- 3,-Árnica silvestre *Machaerantera pinatifida* (Asteraceae)
- 4,-Bisnaga *Echinocereus pectinatus* (Cactaceae)
- 5,-Bisnaga ganchuda *Echinocactus uncinatus* (Cactaceae)
- 6,- Bisnaga Torcida, Cacto 1 *Thelocactus bicolor* (Cactaceae)
- 7,-Calabacilla loca *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae)
- 8,-Cardenche *Opuntia imbricata* (Cactaceae)
- 9,-Ciruela *Prunus armeniaca* (Drupaceae)
- 10,-Correhuela perene *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae)
- 11,-Cuscuta *Cuscuta arvensis* (Convolvulaceae)
- 12,-Eucalipto *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae)
- 13,-Garbancillo, chaparra *Peganum mexicanum* (Zygophyllaceae)
- 14,-Girasol cultivado *Helianthus annuus* (Asteraceae)
- 15,-Girasolillo, lampote *Helianthus annuus* (Asteraceae)
- 16,-Gobernadora *Larrea tridentata* (Zygophyllaceae)
- 17,-Golondrina *Euphorbia micromera* (Euphorbiaceae)
- 18,-H. de la hormiga, pegajosa *Allionia incamata* (Nyctaginaceae)
- 19,-H. del gato, encinillo *Croton dioicus* (Euphorbiaceae)
- 20,-H. del negro *Spharalcea angustifolia* (Asteraceae)
- 21,-Hojasén *Flouencia cernua* (Asteraceae)
- 22,-Huizache *Acacia farnesiana* (Fabaceae)
- 23,-Lechuguilla *Agave lechuguilla* (Agavaceae)
- 24,-Maguey *Agave asperrima* (Agavaceae)
- 25,-Maíz *Zea mays* (Poaceae)
- 26,-Melón *Cucumis melo* (Cucurbitaceae)
- 27,-Mezquite *Prosopis juliflora* (Fabaceae)
- 28,-Mostaza *Sisymbrium auriculatum* (Brassicaceae)
- 29,-Nopal cegador *Opuntia microdasys* (Cactaceae)
- 30,-Ocotillo *Fouqueria splendens* (Fouqueriaceae)
- 31,-Orégano *Lippia berlandieri* (Verbenaceae)
- 32,-Pepino *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae)
- 33,-Peyote *Lophophora williamsii* (Cactaceae)
- 34,-Pinabete *Tamarix pentandra* (Tamaricaceae)

- 35,-Quelite *Amaranthus palmeri* (Amaranthaceae)
- 36,-Sangre de drago *Jatropha dioica* (Euphorbiaceae)
- 37,-Sorgo *Sorghum vulgare* (Poaceae)
- 38,-Vara prieta *Cordia parviflora* (Boraginaceae)
- 39,-Virginio o tabaquillo *Nicotiana glauca* (Solanaceae)
- 40,-Zacate buffel *Cenchrus ciliaris* (Poaceae)
- 41,-Zacate chino *Cynodon dactylon* (Poaceae)

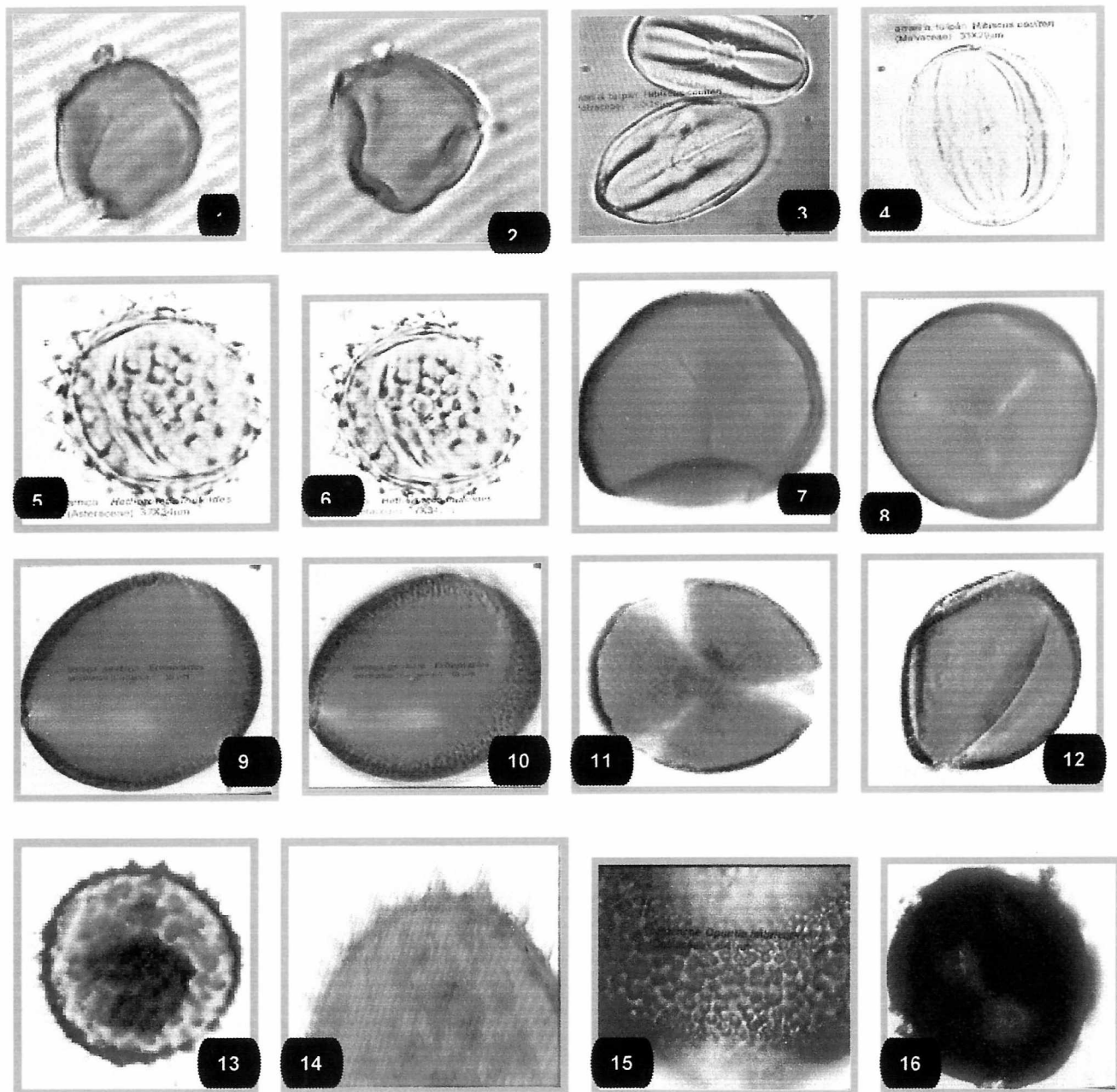
En las fotos de la 1 a la 80 se muestran cada uno de los pólenes aislados y su diversidad de formas que se encontraron en el Cañón del Soldado en la Sierra del Sarnoso y área de cultivo del municipio de Gómez Palacio, Durango. En ellos se pueden observar las diferentes formas como son, espiculado (con espinas), reticulado (en forma de red), granuloso (con granos), verrugoso (con verrugas), verrucosa (corrugado), estriada (con estrías), foveolada, perforada (con hoyos), rugulada (como red), entre otros. (MacAndrews, 1973) y tamaño expresado en micras de cada especie que se obtuvo en el microscopio.

Las especies encontradas en floración por cada mes a través del polen colectado por las abejas las colmenas de el estudio se muestran en los cuadros 2 al 14. En estos cuadros se pueden observar las especies que solo una vez florecen en, Primavera-Verano: Amarilla, tulipán *Hibiscus coulteri* (Malvaceae), Árnica silvestre *Machaeranthera pinatifida* (Asteraceae), Bisnaga ganchuda *Echinocactus uncinatus* (Cactaceae), Ciruela *Prunus armeniaca* (Drupaceae), Huizache *Acacia farnesiana* (Fabaceae), Maíz *Zea mays* (Poaceae), Orégano *Lippia berliandieri* (Verbenaceae), Sorgo *Sorghum vulgare* (Poaceae), Virginio o tabaquillo *Nicotiana glauca* (Solanaceae). Es posible que algunas de ellas florezcan en otros meses del año, pero por su reducido número o lejanía no sean pecoreadas por las abejas, este podría ser el caso del maíz.

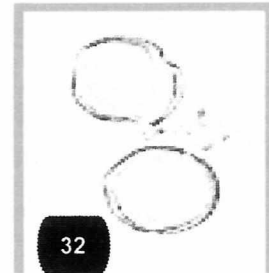
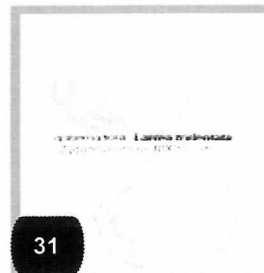
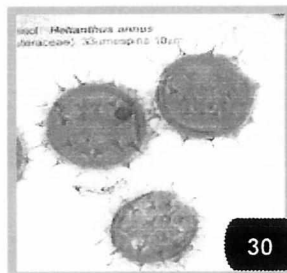
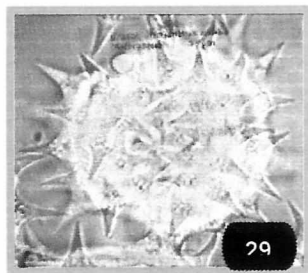
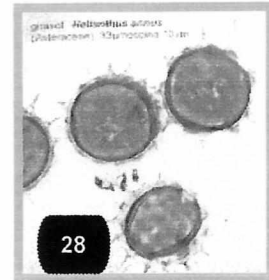
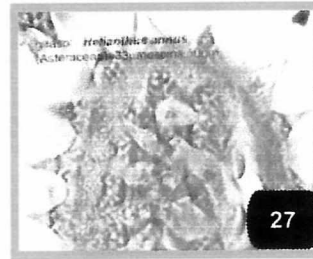
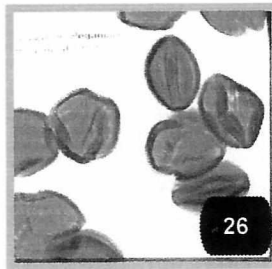
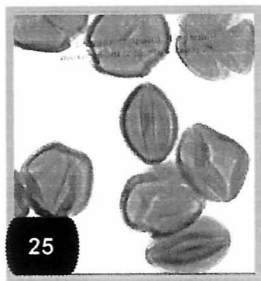
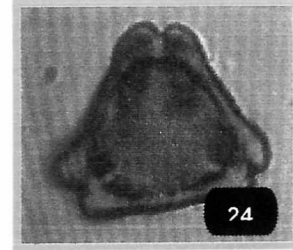
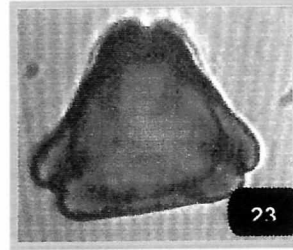
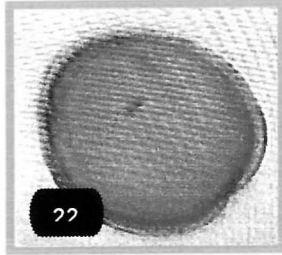
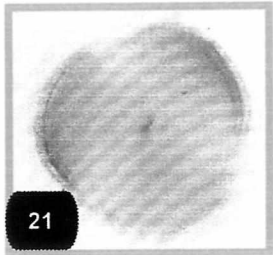
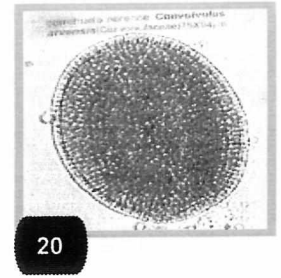
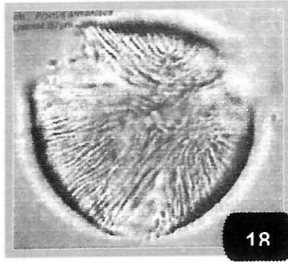
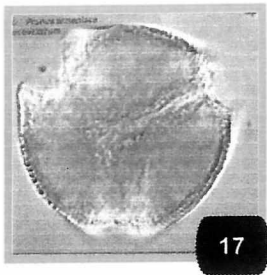
Las plantas de las estaciones Otoño-Invierno: Calabacilla loca *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae), Girasol cultivo *Helianthus annuus* (Asteraceae), Hojasén *Flourenzia cernua* (Asteraceae), Huizache *Acacia farnesiana* (Fabaceae), Peyote *Lophophora williamsii* (Cactaceae). Estas especies son susceptibles al

daño por heladas en invierno, y su aparición indica que este año el invierno fue benigno, aunque algunas aparecen en la transición del invierno a la primavera.

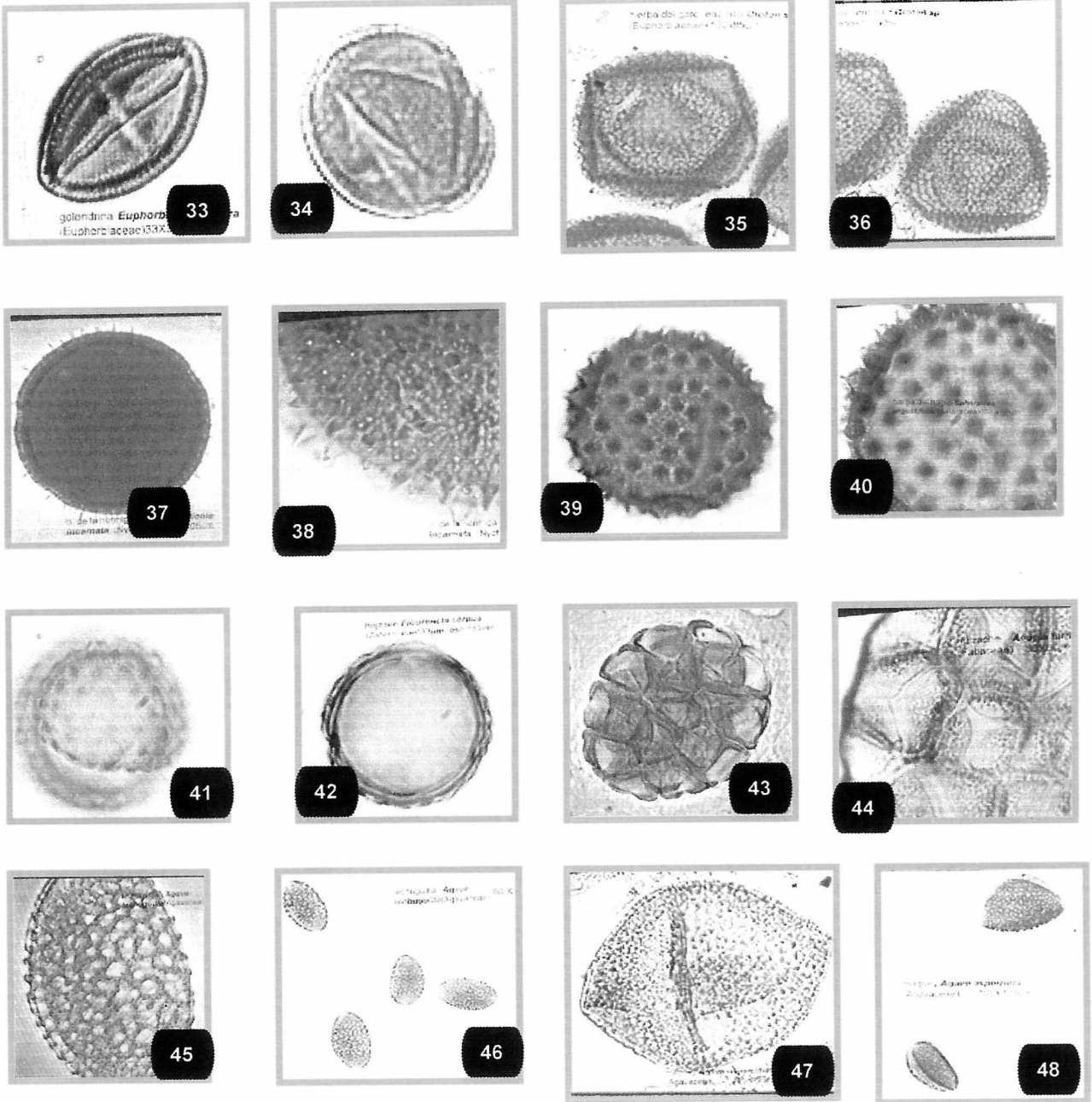
Las plantas que tienen mas extensa la floración fueron: Garbancillo , chaparra *Peganum mexicanum* (Zygophyllaceae), Gobernadora *Larrea tridentata* (Zygophyllaceae), Golondrina *Euphorbia micromera* (Euphorbiaceae), Lechuguilla *Agave lechuguilla* (Agavaceae).



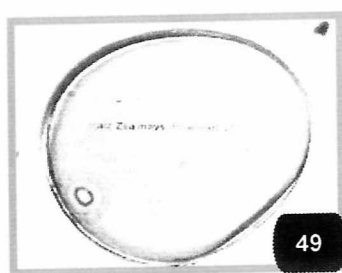
1-2 Alfalfa *Medicago sativa* (Fabaceae) 33X38  $\mu\text{m}$  , 2-4 Amarilla, tulipán *Hibiscus coulteri* (Malvaceae) 33X29  $\mu\text{m}$ , 5-6 Árnica silvestre *Machaerantera pinatifida* (Asteraceae) 37X34  $\mu\text{m}$ , 7-8 Bisnaga *Echinocereus pectinatus* (Cactaceae) 80  $\mu\text{m}$ , 9-10 Bisnaga ganchuda *Echinocactus uncinatus* (Cactaceae) 39  $\mu\text{m}$ , 11-12 Bisnaga torcida *Thelocactus bicolor* (Cactaceae) 57  $\mu\text{m}$ , 13-14 Calabacilla loca *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae) 130  $\mu\text{m}$ , 15-16 Cardenche *Opuntia imbricata* (Cactaceae) 147  $\mu\text{m}$ .



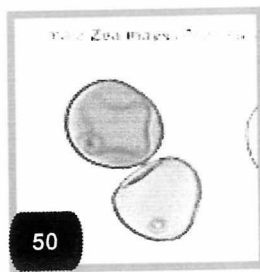
17-18 Ciruelo *Prunus armeniaca* (Drupaceae) 37  $\mu$ m, 19-20 Correhuela perenne *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) 75X94  $\mu$ m, 21-22 Cuscuta *Cuscuta arvensis* (Convolvulaceae) 26  $\mu$ m, 23-24 Eucalipto *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) 20x20x20  $\mu$ m, 25-26 Garbancillo *Peganum mexicanum* (Zygophyllaceae) 28  $\mu$ m, 27-28 Girasol *Helianthus annuus* (Asteraceae) 33  $\mu$ m, 29-30 Girasolillo *Helianthus annuus* (Asteraceae) 33  $\mu$ m, 31-32 Gobernadora *Larrea tridentata* (Zygophyllaceae) 18X20  $\mu$ m.



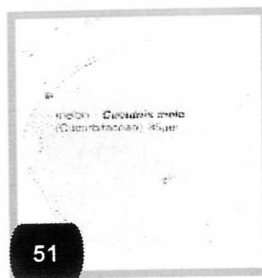
33-34 Golondrina *Euphorbia micromera* (Euphorbiaceae) 33X30  $\mu\text{m}$ , 35-36 Hierba del gato *Croton* sp (Euphorbiaceae) 130x85  $\mu\text{m}$ , 37-38 Hierba de la hormiga *Allionia incarnata* (Nyctaginaceae) 105  $\mu\text{m}$ , 39-40 Hierba del negro *Spharalcea angustifolia* (Asteraceae) 33 a 58  $\mu\text{m}$ , 41-42 Hojasén *Flourenzia cernua* (Asteraceae) 33  $\mu\text{m}$ , 43-44 Huizache *Acacia farnesiana*, A. (Fabaceae) 66X80  $\mu\text{m}$ , 45-46 Lechuguilla *Agave lechuguilla* (Agavaceae) 60X114  $\mu\text{m}$ , 47-48 Maguey *Agave asperima* (Agavaceae) 105X125  $\mu\text{m}$ .



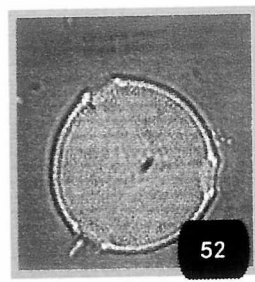
49



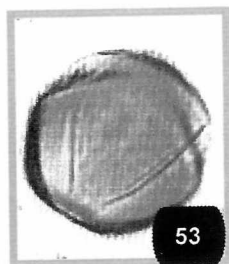
50



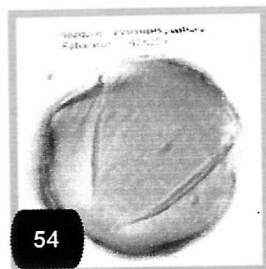
51



52



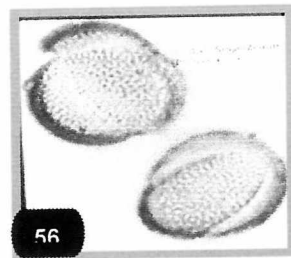
53



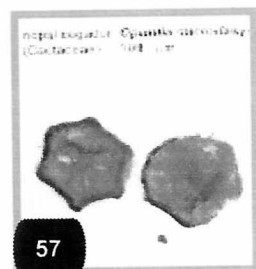
54



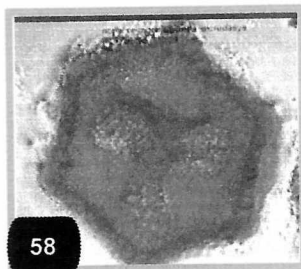
55



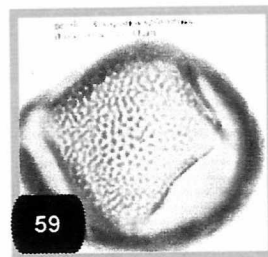
56



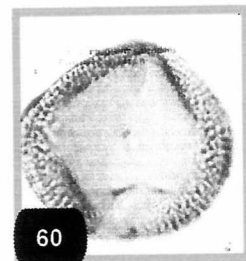
57



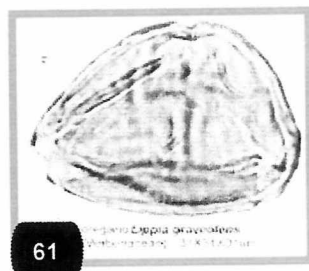
58



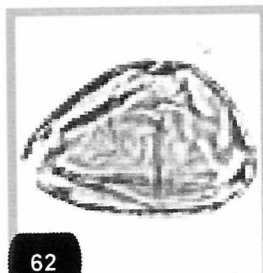
59



60



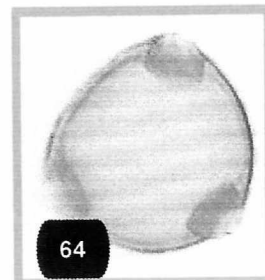
61



62



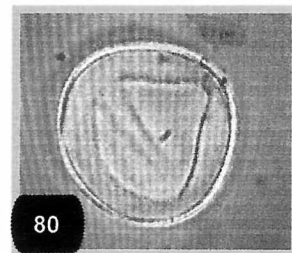
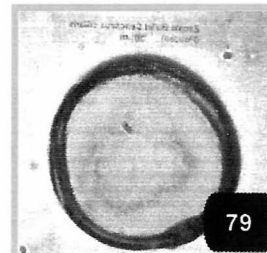
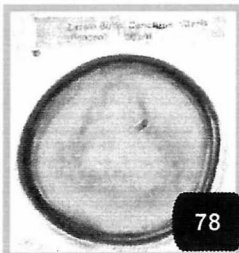
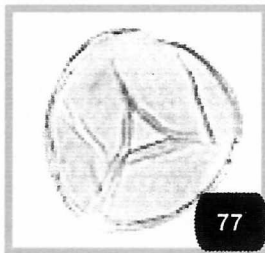
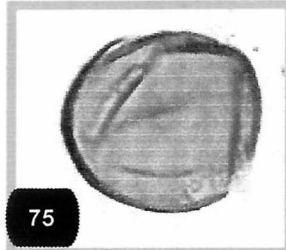
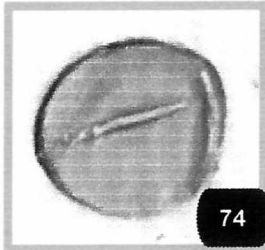
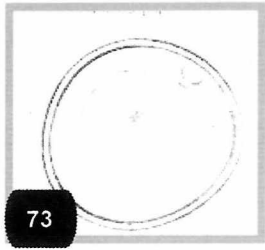
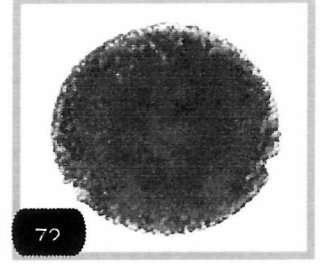
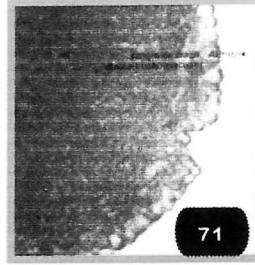
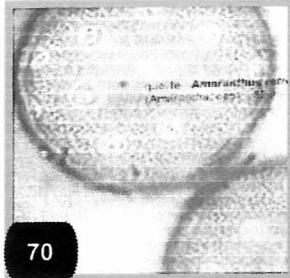
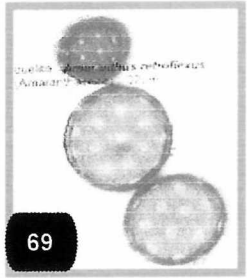
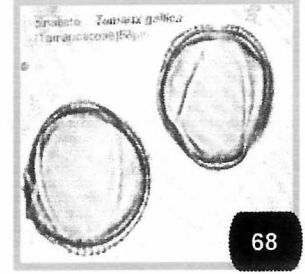
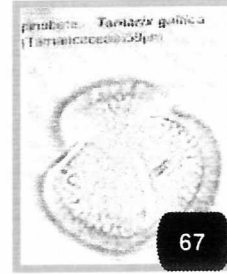
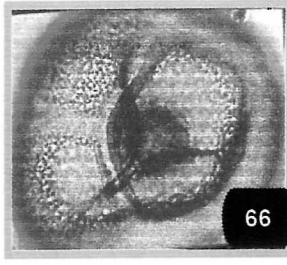
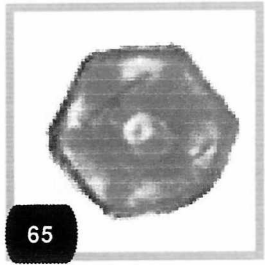
63



64

49-50 Maíz *Zea mays* (Poaceae) 120  $\mu\text{m}$ , 51-52 Melón *Cucumis melo* (Cucurbitaceae) 85  $\mu\text{m}$ , 53-54 Mezquite *Prosopis juliflora* (Fabaceae) 40X35  $\mu\text{m}$ , 55-56 Mostaza *Sisymbrium auriculatum* (Brassicaceae) 21  $\mu\text{m}$ , 57-58 Nopal cegador *Opuntia microdasys* (Cactaceae) 108  $\mu\text{m}$ , 59-60 Ocotillo *Fouquieria splendens* (Fouquieriaceae) 41  $\mu\text{m}$ , 61-62 Orégano *Lippia berlandieri* (Verbenaceae) 31X31X31  $\mu\text{m}$ , 63-64 Pepino *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae) 46  $\mu\text{m}$ .





65-66 Peyote *Lophophora williamsii* (Cactaceae) 77µm, 67-68 Pinabete *Tamarix pentandra* (Tamaricaceae) 58 µm, 69-70 Quelite *Amaranthus palmeri* (Amaranthaceae) 32 µm, 71-72 Sangre de drago *Jatropha dioica* (Euphorbiaceae) 72 µm, 73 Sorgo *Sorghum vulgare* (Poaceae) 56X51 µm, 74-75 Vara prieta *Physallis phylladelphica* (Boraginaceae) 35 µm, 76-77 Virginio *Nicotiana glauca* (Solanaceae) 30X38 µm, 78-79 Zacate Buffel *Cenchrus ciliaris* Poaceae) 30 µm, 80 Zacate chino *Cynodon dactylon* (Poaceae) 27 µm.

**CUADRO 2. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-JUNIO-02**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Bisnaga Torcida Cacto 1	<i>Thelocactus bicolor</i> (Cactaceaea)	57	0.7757
Correhuela perenne	<i>Convolvulus arvensis</i> (Convolvulaceae)	75X94	2.7759
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i> (Myrtaceae)	20X20X20	0.0167
Garbancillo, chaparra	<i>Peganum mexicanum</i> (Zygophyllaceae)	28	0.0919
Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i> (Zygophyllaceae)	20X18	0.0301
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326
Maguey	<i>Agave asperrima</i> (Agavaceae)	105X125	0.0068
Melón	Cucumis melo (Cucurbitaceae)	85	2.5724
Orégano	<i>Lippia berlandieri</i> (Verbenaceae)	31X31X31	0.0623
Sangre de drago	<i>Jatropha dioica</i> (Euphorbiaceae)	72	1.5634

**CUADRO 3. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 28-JULIO-02**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Garbancillo, chaparra	<i>Peganum mexicanum</i> (Zygophyllaceae)	28	0.0919
Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i> (Zygophyllaceae)	20X18	0.0301
Golondrina	<i>Euphorbia micromera</i> (Euphorbiaceae)	33X30	0.1368
H. del gato, encinillo	<i>Croton dioicus</i> (Euphorbiaceae)	130x85	0.0601
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326
Maguey	<i>Agave asperrima</i> (Agavaceae)	105X125	0.0068
Mostaza	<i>Sisymbrium auriculatum</i> (Brassicaceae)	21	0.0387
Vara prieta	<i>Cordia parviflora</i> (Boraginaceae)	38	0.2298

**CUADRO 4. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 08-AGOSTO-02**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Amarilla, tulipán	<i>Hibiscus coulteri</i> (Malvaceae)	33X29	0.1322
Correhuela perenne	<i>Convolvulus arvensis</i> (Convolvulaceae)	75X94	2.7759
H. del gato, encinillo	<i>Croton dioicus</i> (Euphorbiaceae)	130x85	0.0601
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326
Maguey	<i>Agave asperrima</i> (Agavaceae)	105X125	0.0068
Maíz	<i>Zea mays</i> (Poaceae)	120	0.0072
Melón	<i>Cucumis melo</i> (Cucurbitaceae)	85	2.5724
Mezquite	<i>Prosopis juliflora</i> (Fabaceae)	40X35	0.2345
Quelite	<i>Amaranthus palmeri</i> (Amaranthaceae)	32	0.1372
Sorgo	<i>Sorghum vulgare</i> (Poaceae)	56X51	0.6699
Zacate chino	<i>Cynodon dactylon</i> (Poaceae)	27	0.0824

**CUADRO 5. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 10-SEPTIEMBRE-02.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Bisnaga	<i>Echinocereus pectinatus</i> (Cactaceae)	80	2.1446
Cuscuta	<i>Cuscuta arvensis</i> (Convolvulacea)	26	0.0736
Garbancillo, chaparra	<i>Peganum mexicanum</i> (Zygophyllaceae)	28	0.0919
H. del gato, encinillo	<i>Croton dioicus</i> (Euphorbiaceae)	130x85	0.0601
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326

**CUADRO 6. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO DE LA SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. GOMEZ PALACIO, DURANGO DEL 04-OCTUBRE-02.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Calabacilla loca	<i>Cucurbita foetidissima</i> (Cucurbitaceae)	130	0.0092
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i> (Myrtaceae)	20X20X20	0.0167
Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i> (Zygophyllaceae)	20X18	0.0271
H. de la hormiga	<i>Allionia incarnata</i> (Nyctaginaceae)	105	0.0048
H. del negro	<i>Spharalcea angustifolia</i> (Asteraceae)	33 a 58	0.0387
Mostaza	<i>Sisymbrium auriculatum</i> (Brassicaceae)	21	0.0387
Nopal cegador	<i>Opuntia microdasys</i> (Cactaceae)	108	0.0052
Pepino	<i>Cucumis sativus</i> (Cucurbitaceae)	46	0.4077
Z. buffel	<i>Cenchrus ciliaris</i> (Poaceae)	30	0.1130

**CUADRO 7. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO EL 05-NOVIEMBRE-02.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Girasol cultivo	<i>Helianthus annuus</i> (Asteraceae)	33	0.1505
Girasolillo, lampote	<i>Helianthus annuus</i> (Asteraceae)	35	0.1795
Golondrina	<i>Euphorbia micromera</i> (Euphorbiaceae)	33X30	0.1368
H. de la hormiga	<i>Allionia incarnata</i> (Nyctaginaceae)	105	0.0048
Peyote	<i>Lophophofa williamsii</i> (Cactaceae)	77	1.9123
Quelite	<i>Amaranthus palmeri</i> (Amaranthaceae)	32	0.1317
Z. Buffel	<i>Cenchrus ciliaris</i> (Poaceae)	30	0.1130
Z. chino	<i>Cynodon dactylon</i> (Poaceae)	27	0.0824

**CUADRO 8. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO EL 17-DICIEMBRE-02.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Bisnaga torcida, Cacto 1	<i>Thelocactus bicolor</i> (Cactaceaea)	57	0.7757
Correhuela perenne	<i>Convolvulus arvensis</i> (Convolvulaceae)	75X94	2.7759
Garbancillo, chaparra	<i>Peganum mexicanum</i> (Zygophyllaceae)	28	0.0919
Girasolillo, lampote	<i>Helianthus annuus</i> (Asteraceae)	35	0.1795
Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i> (Zygophyllaceae)	20X18	0.0301
Golondrina	<i>Euphorbia micromera</i> (Euphorbiaceae)	33X30	0.1368
H. del negro	<i>Spharalcea angustifolia</i> (Asteraceae)	33 a 58	0.4650
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326
Maguey	<i>Agave asperrima</i> (Agavaceae)	105X125	0.0068

**CUADRO 9. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO EL 28-ENERO-03.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Cuscuta	<i>Cuscuta arvensis</i> (Convolvulacea)	26	0.0736
Garbancillo, chaparra	<i>Peganum mexicanum</i> (Zygophyllaceae)	28	0.0919
Golondrina	<i>Euphorbia micromera</i> (Euphorbiaceae)	33X30	0.1368
Hojasén	<i>Flourenzia cernua</i> (Asteraceae)	33	0.1505
H. del gato	<i>Croton dioicus</i> (Euphorbiaceae)	130x85	0.0601
Ocotillo	<i>Fouqueria splendens</i> (Fouqueriaceae)	41	0.2886

**CUADRO 10. POLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO EL 02-FEBRERO-03.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Cuscuta	<i>Cuscuta arvensis</i> (Convolvulacea)	26	0.0736
Golondrina	<i>Euphorbia micromera</i> (Euphorbiaceae)	33X30	0.1368
H. del negro	<i>Spharalcea angustifolia</i> (Asteraceae)	33 a 58	0.4650
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326

**CUADRO 11. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO EL 25-MARZO-03.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i> (Fabaceae)	33X38	0.1996
Cuscuta	<i>Cuscuta arvensis</i> (Convolvulacea)	26	0.0736
H. del gato, encinillo	<i>Croton dioicus</i> (Euphorbiaceae)	130x85	0.0601
Huizache	<i>Acacia farnesiana</i> (Fabaceae)	66X80	1.7693
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326
Nopal cegador	<i>Opuntia microdasys</i> (Cactaceae)	108	0.0052
Ocotillo	<i>Fouquieria splendens</i> (Fouquieriaceae)	41	0.2886
Pinabete	<i>Tamarix pentandra</i> (Tamaricaceae)	15	0.0141
Vara prieta	<i>Cordia parviflora</i> (Boraginaceae)	38	0.2298

**CUADRO 12. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO EL 08-ABRIL-02.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i> (Fabaceae)	33X38	0.1996
Bisnaga ganchuda	<i>Echinocactus uncinatus</i> (Cactaceae)	39	0.2484
Bisnaga torcida, Cacto 1.	<i>Thelocactus bicolor</i> (Cactaceaea)	57	0.7757
Cardenche	<i>Opuntia imbricata</i> (Cactaceae)	84	2.4827
Ciruela	<i>Prunus armeniaca</i> (Drupaceae)	37	0.2121
Correhuela perenne	<i>Convolvulus arvensis</i> (Convolvulaceae)	75X94	2.7759
Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i> (Zygophyllaceae)	20X18	0.0301
Golondrina	<i>Euphorbia micromera</i> (Euphorbiaceae)	33X30	0.1368
Mezquite	<i>Prosopis juliflora</i> (Fabaceae)	40X35	0.2345
Pepino	<i>Cucumis sativus</i> (Cucurbitaceae)	46	0.4077
Sangre de drago	<i>Jatropha dioica</i> (Euphorbiaceae)	72	1.5634
Virginio o tabaquillo	<i>Nicotiana glauca</i> (Solanaceae)	30X38	0.1814

**CUADRO 13. PÓLENES ACARREADOS POR LAS ABEJAS EN EL CAÑÓN DEL SOLDADO SIERRA DEL SARNOSO, MPIO. DE GOMEZ PALACIO, DURANGO EL 13-MAYO-03.**

Nombre común	Nombre científico	Medida $\mu\text{m}$	Volumen $\text{mm}^3$
Árnica silvestre	<i>Machaerantera pinatifida</i> (Asteraceae)	37X34	0.1949
Bisnaga	<i>Echinocereus pectinatus</i> (Cactaceae)	80	2.1446
Bisnaga Torcida, Cacto 1	<i>Thelocactus bicolor</i> (Cactaceaea)	57	0.7757
Cardenche	<i>Opuntia imbricata</i> (Cactaceae)	84	2.4827
Garbancillo, chaparra	<i>Peganum mexicanum</i> (Zygophyllaceae)	28	0.0919
Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i> (Zygophyllaceae)	20X18	0.0301
H. de hormiga, pegajosa	<i>Allionia incarnata</i> (Nyctaginacea)	105	0.0048
Lechuguilla	<i>Agave lechuguilla</i> (Agavaceae)	60X114	0.0326
Melón	<i>Cucumis melo</i> (Cucurbitaceae)	85	2.5724





De las anteriormente mencionadas que son consideradas como plantas medicinales en la región (Madinaveitia, 2002) la Alfalfa *Medicago sativa* , Cardenche *Opuntia imbricata*, Correhuela perenne *Convolvulus arvensis*, Eucalipto *Eucalyptus globulus*, Girasol cultivo *Helianthus annuus*, Gobernadora *Larrea tridentata*, Golondrina *Euphorbia micromera*, H. del negro *Spharalcea angustifolia*, Hojasén *Flouencia cernua* , Huizache *Acacia farnesiana*, Lechuguilla *Agave lechuguilla*, Maguey *Agave asperrima*, Nopal cegador *Opuntia microdasys*, Ocotillo *Fouqueria splendens*, Orégano *Lippia berlandieri*, Peyote *Lophophofa williamsii*, Sangre de drago *Jatropha dioica*.

## CONCLUSIONES

- Se a logrado obtener un patrón de referencia con diferentes especies tanto ornamentales, cultivadas y silvestres en el cual nos hemos basado para poder obtener el calendario de floración de plantas silvestres en la Sierra del Sarnoso Gómez palacio Durango.
- Se identificaron 41 especies en la Sierra del Sarnoso Gómez palacio Durango de las colmenas colocadas en el Cañón del Soldado.
- Las plantas que tienen mas extensa la floración fueron: Garbancillo , chaparra *Peganum mexicanum* (Zygophyllaceae), Gobernadora *Larrea tridentata* (Zygophyllaceae), Golondrina *Euphorbia micromera* (Euphorbiaceae), Lechuguilla *Agave lechuguilla* (Agavaceae).
- Las plantas que tienen menos extensa la floración fueron: Amarilla, tulipán *Hibiscus coulteri* (Malvaceae), Árnica silvestre *Machaeranthera pinatifida* (Asteraceae), Bisnaga ganchuda *Echinocactus uncinatus* (Cactaceae), Bisnaga ganchuda *Echinocactus uncinatus* (Cactaceae), Calabacilla loca *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae), Ciruela *Prunus armeniaca* (Drupaceae), Ciruela *Prunus armeniaca* (Drupaceae), Girasol cultivo *Helianthus annuus* (Asteraceae), Hojasén *Flourenzia cernua* (Asteraceae), Huizache *Acacia farnesiana* (Fabaceae), Maíz *Zea mays* (Poaceae), Orégano *Lippia graveolens* (Verbenaceae), Peyote *Lophophofa williamsii* (Cactaceae), Pinabete *Tamarix pentandra* (Tamaricaceae), Sorgo *Sorghum vulgare* (Poaceae), Virginio o tabaquillo *Nicotiana glauca* (Solanaceae).

## BIBLIOGRAFÍA

- Atkins, E.L., L.D. Anderson, D. Kellum y K.W. Neuman. 1977. Protecting Honey Bees from Pesticides. University of California. Division of Agricultural Sciences. Leaflet 2883.
- Conner, J.K., R. Davis y R. Rush. 1995. The effect of wild radish floral morphology on pollination efficiency by four taxa of pollinators. *Oecologia* vol. 104 pp 234-245
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1999. Carta topográfica 1:50,000 Torreón G13D25, Coahuila y Durango
- Kearns, C.A., D.W. Inouye y N. Waser. 1998. Endangered mutualism: The conservation of plant-pollinator interactions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* Vol. 29 pp 83-106.
- Kearns, C.A., y D.W. Inouye. 1993. Techniques for pollination biologists. University press of Colorado. Niwot, Colorado, U.S.A.
- Krupnick, G.A., A.E. Weis y D.R. Campbell. 1999. The consequences of floral herbivory for pollinator service to *Isomeris arborea*. *Ecology* vol.80 N°1 pp 125-134.
- Lozano, G. S. 1979. Atlas de polen de San Luis Potosí, México. *Pollen et Spores*, XXI (3): 287-336.
- Lozano, G. S. y H. E. Martínez. 1990. Palinología de los Tuxtlas: especies arbóreas: Cuadernos del Instituto de Biología, U.N.A.M., 61p.
- Madinaveitia, R. H. , Serrato R. y Cervantes E. 2002. Plantas medicinales de la Comarca Lagunera, CONACULTA, ICED, PACMYC Y UAAAN, 89 p.
- Martínez-Hernández, E. 1978. Pollen of tropical trees. I. Tiliaceae. *J. Arnold Arboretum, Harvard*, V. 59(3): 229-309.
- Martínez, V. C. 1999( en línea) Partes de la flor <http://www.botanical-online.com/lasflores.htm> [consulta 23 de noviembre de 2004 ]
- Martínez, H. E., A. J. I. Cuadriello, V. O. Téllez, A. E. Ramírez, N. S. Sosa, S. J. Melchor, C. M. Medina. y G. S Lozano 1993. Atlas de las plantas y el polen utilizados por las cinco especies principales de abejas productoras de miel

en la región del Tacaná Chiapas. Publicación especial del Instituto de Geología, U. N. A. M. 105p.

Medina, C. M. 1992. Exploración de los recursos florales por *Nannotrigona testaceicornis* (Apidae) en dos zonas con diferente altitud y vegetación en el Soconusco, Chiapas. U. N. A. M. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, 125p.

McAndrews J. H., Berti A. A. y G. Norris. (1973). "Key to the quaternary pollen and spores of the Great Lakes region". Royal Ontario Museum. Life Sciences (Miscellaneous publication).

Medina, C. M. 1989. Contribución al conocimiento de algunos aspectos ecológicos en relación a la flora apícola explotada por abejas europeas (*Apis mellifera ligustica*, Spinola), abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata*, Lepeletier) e híbridos en el Soconusco, Chiapas. U. N. A. M., Tesis de Maestría en Biología, Facultad de Ciencias, 154p.

Melchor, S. J. E. 1991. Explotación de recursos por *Scaptotrigona pachysoma* en dos zonas con diferente altitud y vegetación en el Soconusco, Chiapas. U. N. A. M. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, 231p.

Negro, A. J. M. 2004 (En línea). Alergia al polen

[http://www.alergomurcia.com/pdf/Alergia\\_al\\_poleno.pdf](http://www.alergomurcia.com/pdf/Alergia_al_poleno.pdf)

Ollerton, J. 1999. The evolution of pollinator-plant relationships within the arthropods. Bol. S.E.A. Vol. Monográfico N° 26 pp 741-758.

Quiroz, G. D. L., 1993. Patrones estacionales de utilización de recursos florales por *Scaptotrigona heflwegeri* en la Estación de Biología Charnela, Jalisco. U.N.A.M., Tesis de Maestría en Biología. Facultad de Ciencias, "148p.

Ramírez. A. E. 1989. Explotación de los recursos florales por *Plebeia* sp (Apidae) en dos zonas con diferente altitud y vegetación. en el Soconusco, Chiapas. U.N.A.M. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, 159p.

Ramírez, A. E. 1995. Estudio melisopalínológico del alimento larval *Euglossa purpurea* Friese 1899 (Apidae: Bombinae Euglossini) para determinar los recursos florales de interés trófico, con algunas observaciones sobre

- biología de la Nidificación en Unión Juárez, Chiapas. U.N.A.M. Tesis de Maestría en Biología Vegetal , Facultad de Ciencias. 11J2p
- Rush, S., J. Conner y P. Jennetten. 1995 The effects of natural variation in pollinator visitation on rates of pollen removal in wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). Am. J. Botany vol.82 N°12 pp 1522-1526.
- Reyes, C. J.L. y P.Cano R. 2004. Manual de Polinización Apícola. Programa Nacional para el Control de la abeja africana (PNCAA) -Instituto Interamericano para la Cooperación Agrícola (IICA). Manual N° 7: 54p
- Schweitzer P. 2002 (En línea) Análisis Polínico de Mieles  
[http://www.beekeeping.com/abeille-de-france/articles/analisis\\_polinico\\_mieles.htm](http://www.beekeeping.com/abeille-de-france/articles/analisis_polinico_mieles.htm)
- Sosa, N. S. 1991.Explotación de recursos florales por *Tetragona jaty* en dos zonas con diferente altitud y vegetación en el Soconusco. Chiapas. U.N.A.M., Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias. p98.
- Tellería, M. C. 2001(en línea). El polen de las mieles  
<http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/polen/el%20polen%20de%20las%20mieles.pdf> [ consulta 12 de noviembre de 2004]
- Unidad de alergia Infantil Hospital la Fe. 2002 (en línea). Polen y alergia  
<http://www.alergiainfantillafe.org/polenyalergia.htm> Valencia España [ consulta 06 de noviembre de 2004 ].
- vonFrisch, K. 1976 Bees their vision, chemical senses, and language. Rev. ed. Second printing. Cornell University Press, Ithaca, New York, U.S.A.
- Waser, N. y L. Chittka. 1998 Evolutionary Ecology. Bedazzled by flowers. Nature vol. 394 N° 27 pp 835-836.