

Espectro polínico y análisis fisicoquímico de mieles de la Región del Biobío, Chile

Pollen spectra and physicochemical analysis of honeys from the Region of Biobío, Chile

CAROLINA NAVARRETE¹, GLADYS MUÑOZ-OLIVERA¹, GUILLERMO WELLS¹, JULIO BECERRA², JULIO ALARCÓN² & VÍCTOR L. FINOT^{1*}

¹Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Casilla 537, Chillán, Chile.

²Grupo Investigación en Química y Biotecnología en Productos Naturales Bioactivos, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad del Bío-Bío, Chillán, Chile.

*vifinot@udec.cl

RESUMEN

Se analizó el espectro polínico y las características fisicoquímicas de 13 muestras de mieles producidas por *Apis mellifera* en dos áreas con diferente grado de intervención antrópica en la Región del Biobío, Provincia de Ñuble, Chile: a) Depresión Intermedia y b) zonas precordilleranas de la Cordillera de los Andes. Los datos polínicos y fisicoquímicos se sometieron a análisis de componentes principales y la diversidad polínica se calculó con el índice de diversidad de Shannon-Weaver (H'). Algunas especies nativas como *Gevuina avellana*, *Lomatia hirsuta*, *Lithraea caustica* y *Luma apiculata* se encontraron solo en mieles provenientes de San Fabián de Alico (zonas precordilleranas), pero las especies introducidas dominaron el espectro polínico en ambas zonas. Los factores fisicoquímicos más importantes para distinguir las mieles de ambas zonas fueron el contenido de cenizas, el pH, la acidez y la humedad. Todas las mieles analizadas cumplen los requerimientos del Reglamento Sanitario de Alimentos de Chile. El análisis melisopalinológico permitió detectar una miel bifloral producida en la Depresión Intermedia, y dos mieles monoflorales de *Lotus* provenientes de la zona de precordillera.

PALABRAS CLAVE: Diversidad específica, melisopalinología, miel monofloral.

ABSTRACT

The pollen spectrum and the physicochemical characteristics were analyzed in 13 samples of honeys produced by *Apis mellifera* in two areas with different degree of human disturbance in the Region of Biobío, Province of Ñuble, Chile: a) Central Valley and b) Preandean foothills of the Cordillera de los Andes. Principal component analysis was carried out for pollen and physicochemical data and pollen diversity was calculated with the Shannon-Weaver diversity index (H'). Some native species such as *Gevuina avellana*, *Lomatia hirsuta*, *Lithraea caustica* and *Luma apiculata* were found only in honeys from San Fabián de Alico (Preandean foothills) but introduced species dominated the pollen spectra in both areas. Ash content, pH, acidity and water content were the most important physico-chemical factors to distinguish the honeys from both areas. All honeys showed characteristics that met the standards of the Chilean food health regulations. Melissopalynology allow us to detect one bifloral honey from the Central Valley and two monofloral *Lotus* honeys from the Preandean foothills of Cordillera de los Andes.

KEYWORDS: Melissopalynology, monofloral honey, species diversity.

INTRODUCCIÓN

La miel, sustancia dulce producida por la abeja melífera (*Apis mellifera* L.) a partir del néctar de las plantas o secreciones de plantas o insectos que se alimentan de ellas (Minsal 1996, European Union Directive 2002, Downey

et al. 2005), constituye un alimento natural y nutritivo que consiste de azúcares (principalmente glucosa y fructosa), ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas, en particular, granos de polen (Anklam 1998, Anklam & Radovic 2001).

La composición y características organolépticas de la miel dependen de las flores visitadas por las abejas y de las

condiciones climáticas del sector de origen (Abu-Tarboush *et al.* 1993, Downey *et al.* 2005). La miel contiene polen transportado por las abejas desde las plantas visitadas y por ello, el análisis de la composición polínica de la miel es útil para determinar su origen botánico y geográfico (Molan 1998, Corvucci *et al.* 2015). La determinación del contenido polínico de la miel (melisopalinología) es el método estándar utilizado para identificar su origen botánico y geográfico (Maurizio 1975, Louveaux *et al.* 1978, Soria *et al.* 2004, Corvucci *et al.* 2015). La mayor dificultad para aplicar esta técnica es que requiere el conocimiento previo de la morfología de los granos de polen para obtener resultados consistentes; por otra parte, debe tenerse en cuenta la presencia de polen contaminante proveniente de plantas anemófilas (Molan 1998). No obstante, se considera el método más exacto para determinar el origen botánico y geográfico de la miel (Sajwani *et al.* 2007, Sahinler *et al.* 2009, Arone & De Micco 2010). Actualmente, el análisis combinado de microscopía óptica y electrónica de barrido permite obtener una mejor resolución de la morfología de los granos de polen para facilitar su identificación (Dustmann & von der Ohe 1993, Arriagada 2008).

Los estudios microscópicos combinados con análisis fisicoquímicos (e.g. Montenegro *et al.* 2003, Martins *et al.* 2008, Forcone *et al.* 2009), en conjunto con análisis estadísticos multivariados han demostrado ser una herramienta poderosa para caracterizar las mieles (Nozal *et al.* 2005, Corbella & Cozzolino 2008, Martins *et al.* 2008, Sahinler *et al.* 2009, Arone & De Micco 2010, Sant'Ana *et al.* 2012, Corvucci *et al.* 2015).

Numerosos autores han determinado las características de mieles chilenas mediante análisis palinológico (e.g. González *et al.* 1992, Rougier *et al.* 1994, Montenegro *et al.* 1989, 1992, 2003, 2004, 2008, 2010, 2013; Boettcher 1998, Díaz 2003, Ramírez 2004, Fredes & Montenegro 2006, Montenegro & Fredes 2008, Vásquez 2010, Mejías & Montenegro 2012). Sin embargo, los estudios palinológicos de las mieles producidas en la Provincia de Ñuble son escasos (e.g. González *et al.* 1992, Arriagada 2008, Muñoz-Olivera en prensa). Según los censos agropecuarios de 1997 (INE 1998) y 2007 (INE 2009), en la Región del Biobío existen unas 70.000 colmenas que concentran cerca de un 35% de la producción de miel a nivel nacional, ubicadas especialmente en la Depresión Intermedia y zonas precordilleranas de las provincias de Ñuble y Biobío. En el periodo 2001-2011 el volumen de miel exportado aumentó de 360 a 474 mil toneladas, correspondiente a un aumento de 458 a 1628 millones de dólares, respectivamente. Un 85% de la miel producida es exportada a la Unión Europea y de ella un 80% tiene como destino Alemania (ODEPA 2012). Esta región posee una flora privilegiada, ya que se trata de una zona de transición entre la zona esclerófila mediterránea de Chile central y la zona templado-lluviosa de la Provincia Subantártica (Villagrán & Le-Quesne, 1996,

Teneb *et al.* 2004). Además, el clima mediterráneo otorga a la miel características organolépticas deseables, por su bajo contenido de humedad (Lorenzo 2002). Chile central tiene una alta proporción (45,83%) de flora vascular endémica (Marticorena 1990) hecho que lo posiciona como uno de los *hot-spots* de biodiversidad del mundo (Arroyo 1999, Myers *et al.* 2000, Mittermeier 2004). Por otra parte, se caracteriza por un alto grado de perturbación ambiental, que es particularmente importante en la Depresión Intermedia, en contraste con los cerros precordilleranos de los Andes que muestran un grado muy bajo de alteración antrópica.

En este trabajo se analizaron mieles producidas en dos zonas geográficas de la Provincia de Ñuble con distinto grado de intervención antrópica: 1) San Fabián de Alico, ubicado en la zona precordillerana de los Andes; en el paisaje domina la vegetación nativa, principalmente bosques de *Nothofagus* (Gajardo 1994), y 2) Depresión Intermedia (Chillán, Chillán Viejo y Quinchamalí), caracterizada por un alto grado de intervención antrópica; la vegetación comprende principalmente especies introducidas, principalmente plantas ornamentales, praderas, malezas y áreas con cultivos intensivos, huertos frutales y producción de plantas ornamentales.

Las características fisicoquímicas de las mieles puede cambiar drásticamente según la flora visitada, las condiciones climáticas y las condiciones de suelo, sin embargo, estudios comparativos de mieles producidas en áreas con diferente grado de alteración antrópica son virtualmente inexistentes en Chile. Por esta razón, el principal objetivo de este trabajo es comparar el espectro polínico y algunas características fisicoquímicas de 13 mieles producidas de modo artesanal en ambas áreas, con el fin de determinar si la intervención antrópica del paisaje altera las mieles en relación con los índices de calidad establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTRAS

Se estudiaron 13 mieles, de las cuales 7 fueron producidas en San Fabián de Alico (precordillera andina) y 6 en la Depresión Intermedia (Chillán, Chillán Viejo, Quinchamalí) (Fig. 1), correspondientes a la cosecha diciembre 2011-enero 2012. Las muestras de miel fueron proporcionadas por apicultores asociados a Biomiel A.G. (Tabla I).

ÁREAS ESTUDIADAS

Los valles precordilleranos de San Fabián de Alico están dominados por bosques nativos de *Nothofagus* (Gajardo 1994); predominan los suelos pertenecientes a la serie San Fabián (Stolpe 2006); el clima es Mediterráneo; las lluvias se presentan en la estación invernal fría mientras la estación cálida es seca; las lluvias alcanzan los 1.033 mm anuales

(Del Pozo & Del Canto 1999). Las localidades situadas en las cercanías de Chillán (Depresión Intermedia) están fuertemente intervenidas, ocupadas principalmente por tierras agrícolas y urbanización. En esta zona la vegetación nativa es escasa y las especies introducidas, principalmente malezas de origen euroasiático dominan el paisaje (Matthei

1995, Finot 1997, Finot *et al.* 2009, 2011); hay varias series de suelos (Bulnes, Chacaya y Mirador) de origen volcánico (Stolpe, 2006); el clima es Mediterráneo; las temperaturas más altas se concentran en enero y las más bajas en julio; las lluvias alcanzan los 1.107 mm anuales (Del Pozo & Del Canto 1999).

TABLA I. Muestras de mieles estudiadas, nombre de los apicultores y coordenadas geográficas de las localidades de origen.

TABLE I. Studied honey samples, names of the beekeepers and geographical coordinates of the localities of origin.

LOCALIDAD	APICULTOR	LATITUD (S)	LONGITUD (W)
DI1 (Monte Rico)	Manuel Otárola	36°42'	71°56'
DI2 (Chillán)	Gabriela García	36°37'	72°22'
DI3 (Chillán Viejo)	Walfried Wend	36°38'	72°13'
DI4 (Quinchamali)	José Valenzuela	36°40'	72°22'
DI5 (Camino a Pinto)	María Becerra	36°40'	71°56'
DI6 (Chillán)	Marcelo Jara	36°36'	72°14'
PC7 (San Fabián de Alico)	María Arias	36°32'	71°33'
PC8 San Fabián de Alico	Luz Figueroa	36°33'	71°33'
PC9 San Fabián de Alico	Gladys Fuentes	36°33'	71°33'
PC10 San Fabián de Alico	José González	36°29'	71°32'
PC11 San Fabián de Alico	José Almuna	36°37'	71°26'
PC12 San Fabián de Alico	Rodrigo Guzmán	36°37'	71°26'
PC13 San Fabián de Alico	Francisco Lara	36°32'	71°33'

DI = Depresión Intermedia; PC = Precordillera.

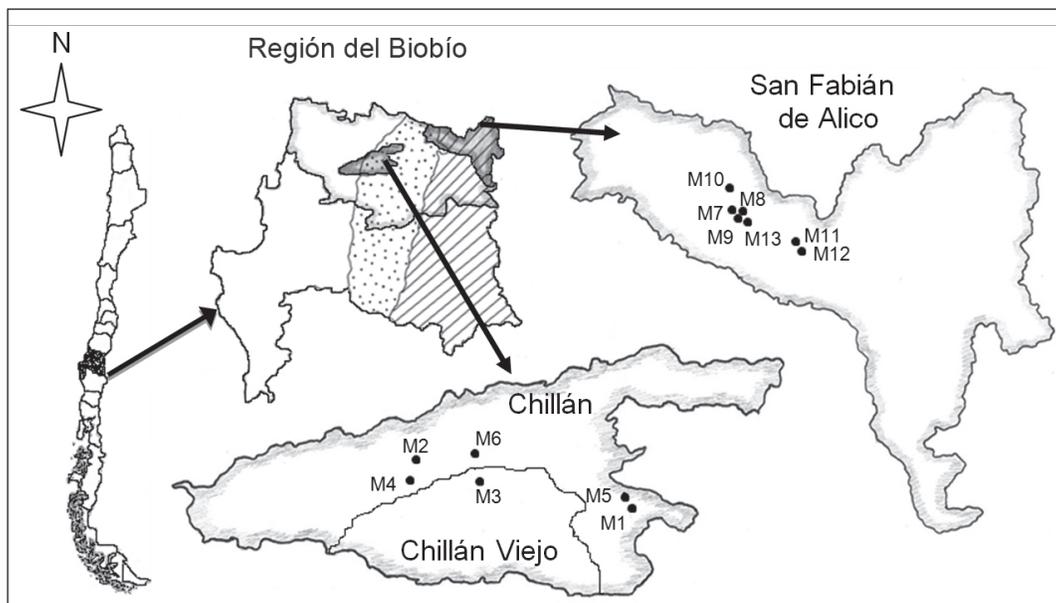


FIGURA 1. Ubicación de los colmenares en la Depresión Intermedia (área punteada) y en la Precordillera andina (área sombreada).

FIGURE 1. Location of the apiaries in the Central Valley (dotted area) and Preandean foothills (hatched area).

ANÁLISIS MELISOPALINOLÓGICO

El análisis melisopalínológico se realizó según la metodología de Louveaux *et al.* (1978). Preparaciones microscópicas fueron confeccionadas a partir de muestras acetolizadas y no-acetolizadas teñidas con fucsina y montadas en gelatina de Kisser. Para la preparación de las muestras acetolizadas, 30 g de miel fueron disueltos en 50 ml de agua destilada temperada (40 °C) y centrifugados a 2500 rpm por 10 min en una centrifuga Eppendorf 5702R; el sedimento conteniendo los pólenes fue tratado con mezcla de acetólisis a 70 °C por 10 min, según la técnica de Erdtman (1952). Para la preparación de las muestras no acetolizadas, 10 g de miel fueron disueltos en 20 ml de agua destilada temperada (40 °C), centrifugados a 2500 rpm por 70 °C, 10 min; el sedimento se montó en gelatina de Kisser previamente teñida con fucsina. Las preparaciones fueron estudiadas en un microscopio Zeiss Axiostar Plus equipado con una cámara fotográfica Canon Power Shot A620 y el programa AxioVision LE Rel 4.4.

Para el análisis cualitativo se contó un mínimo de 1.200 granos de polen por muestra (Louveaux *et al.* 1978); el polen se clasificó como dominante ($P \geq 45\%$), Secundario ($S = 16 - 45\%$), Menor importante ($I = 3 - 15\%$) y menor ($M < 3\%$) (Louveaux *et al.* 1978). Los granos de polen fueron identificados por comparación con preparaciones palinológicas de referencia realizadas con polen de las plantas recolectadas cerca de los apiarios y utilizando la literatura palinológica (Erdtman 1952, Heusser 1971, Crompton & Wojtas 1993, Punt *et al.* 2007, Arriagada 2008). Para la clasificación de las plantas en familias se usó el sistema propuesto por el Angiosperm Phylogeny Group (APG III, 2009).

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

Se analizó la humedad, el color, el pH, la acidez, el contenido de cenizas, el contenido de HMF (hidroximetilfurfural) y los azúcares presentes. La humedad se determinó por refractometría a 20 °C (Vásquez 2010). El color se determinó por espectrofotometría (USDA 1985). Para ello se disolvieron 5 g de miel en 10 mL de agua destilada. La solución se filtró con papel filtro Whatman N°1 y se llevó al espectrofotómetro (UV 2310, Techcomp), para la lectura de absorbancia a 635 nm. Las lecturas se realizaron a los 5, 10, 15 y 20 min (Montenegro *et al.* 2005) mediante el programa UV Analyst for UN 2310. Para la obtención de los mm Pfund (escala de color para la miel), se reemplazó en la fórmula siguiente la última absorbancia leída (Montenegro *et al.* 2005).

$$\text{Mm Pfund} = -38,70 + 371,39 \times \text{Absorbancia}$$

El pH se determinó con un pHmetro a 20 °C (Vásquez 2010); la acidez se determinó por titulación utilizando fenolftaleína como indicador; el contenido de cenizas se determinó por calcinación y el HMF por absorbancia a UV 284 y 336 nm.

Se realizó una determinación cualitativa de azúcares por cromatografía de capa fina.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y DIVERSIDAD

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Infostat v. 2015 (Di Rienzo *et al.* 2015). Los datos palinológicos y fisicoquímicos fueron sometidos a análisis de componentes principales (PCA). Para los datos palinológicos, sólo las especies con frecuencia igual o superior a 30% fueron incluidas en el análisis (35 spp).

Para calcular la diversidad polínica se empleó el índice de diversidad de Shannon (H') (Shannon & Weaver 1949):

$$H' = - \sum_{i=1}^n p_i \ln p_i$$

Donde,

H' = índice de diversidad de Shannon

p_i = abundancia relativa de cada tipo de polen presente en una muestra dada

Para calcular la equitabilidad (J') se utilizó el índice de Pielou (Pielou 1969):

$$J' = \frac{H'}{H'_{max}}$$

Donde,

J' = índice de equitabilidad; J' se acerca a 0 cuando los recursos son utilizados heterogéneamente, esto es, las abundancias relativas de los tipos polínicos no son equitativas y se aproxima a 1 cuando los recursos fueron explotados equitativamente (Ramírez *et al.* 2011, Castellanos *et al.* 2012).

H' = índice de diversidad de Shannon.

H'_{max} = Diversidad máxima ($H'_{max} = \log_2 S$); logaritmo natural del número total de tipos polínicos observados en una muestra dada.

RESULTADOS

ANÁLISIS MELISOPALINOLÓGICO Y DIVERSIDAD ESPECÍFICA

El espectro polínico de las muestras analizadas se entrega en la Tabla II. Se identificaron 66 tipos polínicos de 35 familias: 1 especie de Gimnospermas (*Pinus radiata* D. Don) y 34 Angiospermas (27 Magnoliopsida, 7 Liliopsida). Las familias mejor representadas fueron Asteraceae (8), Fabaceae (8) y Rosaceae (6). La flora nativa está representada por 15 especies (22,7%), distribuida en 11 familias: Anacardiaceae, Alstroemeriaceae, Asparagaceae, Elaeocarpaceae, Escalloniaceae, Fagaceae, Monimiaceae,

Proteaceae, Rosaceae, Salicaceae y Solanaceae. Las plantas introducidas dominaron el espectro polínico en las dos zonas estudiadas aunque en la zona de Precordillera el número de especies nativas fue algo mayor (13 species, 22,8%) que en la Depresión Intermedia (7 species, 15,9%) (Fig 2). *Galega officinalis* L. (galega), tipo *Lotus* [*L. uliginosus* Schkuhr (alfalfa chilota) - *L. corniculatus* L. (lotera)], *Medicago polymorpha* L. (hualputra), tipo *Trifolium* [*Trifolium arvense* L. (trébol patita de conejo)- *T. repens* L. (trébol blanco) - *T. subterraneum* L. (trébol subterráneo)], tipo *Echium* [*Echium vulgare* L. (hierba azul) - *E. plantagineum* L. (viborera)], *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto) y *Cydonia oblonga* Mill. (membrillo) se encontraron en todas las muestras estudiadas. Sólo dos especies nativas se presentaron exclusivamente en muestras provenientes de la Depresión Intermedia: *Pasithea coerulea* (Ruiz & Pav.) D. Don (flor del queltehue) y *Peumus boldus* Molina (boldo); ocho especies nativas fueron identificadas exclusivamente en mieles producidas en la zona precordillerana de San Fabián de Alicó: *Lithrea caustica* (Molina) Hook. & Arn. (litre), *Bomarea salsilla* (L.) Herb. (zarzilla), *Escallonia pulverulenta* (mardoño), *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst. (coigüe), *Luma apiculata* (DC.) Burret (arrayán), *Gevuina avellana* Molina (avellano), *Lomatia hirsuta* (Lam.) Diels. ex Macbr. (radal) y *Quillaja saponaria* Molina (quillay). Cinco especies nativas fueron encontradas en ambas zonas: *Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz (maqui), *Colliguaja dombeyana* A.H.I. Juss. (colliguay), *Lomatia dentata* (Ruiz & Pav.)

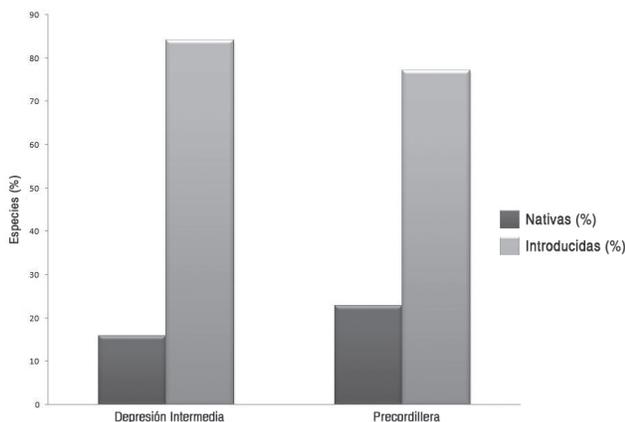


FIGURA 2. Porcentaje de especies nativas e introducidas en las muestras mieles de la Depresión Intermedia y Precordillera de la Región del Biobío.

FIGURE 2. Percentage of native and introduced species in honey samples from the Central Valley and Preandean foothills of the Biobío Region.

R. Br. (avellanillo), *Salix humboldtiana* Willd. (sauce) y *Fabiana imbricata* Ruiz & Pav. (pichi).

En la Depresión Intermedia se identificaron 44 tipos polínicos; el número de especies por muestra fluctuó entre 14 y 32 ($22,8 \pm 5,74$). Los tipos polínicos con mayor presencia fueron tipo *Echium*, *Brassica rapa* L. (yuyo), *Aristotelia chilensis*, *Galega officinalis*, tipo *Lotus*, tipo *Medicago*, tipo *Trifolium*, tipo *Eucalyptus*, tipo Poaceae, *Cydonia oblonga*, *Rosa rubiginosa* L. (mosqueta) y tipo *Salix*.

En la zona precordillerana se determinó la presencia de 57 tipo polínicos; la riqueza de especie fluctuó entre 26 y 37 ($32,0 \pm 3,74$). Los tipos polínicos con mayor presencia fueron tipo *Echium*, *Raphanus raphanistrum* L. (rábano silvestre), *Aristotelia chilensis*, *Galega officinalis*, tipo *Lotus*, tipo *Medicago*, tipo *Trifolium*, tipo *Eucalyptus*, tipo Poaceae, tipo *Rumex*, *Anagallis arvensis* (pimpinela), *Gevuina avellana*, *Lomatia hirsuta*, *Cydonia oblonga*, *Rosa rubiginosa*, *Fabiana imbricata*, *Verbascum thapsus* L. (hierba del paño) y *Verbascum virgatum* Stokes (mitrún).

El índice de Shannon (H') muestra una mayor diversidad polínica en mieles provenientes de la zona precordillerana en comparación con aquellas producidas en la Depresión Intermedia, pero la equitabilidad fue similar en ambas zonas (Tabla III).

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

Las características fisicoquímicas de las muestras estudiadas se entregan en la Tabla IV y una estadística descriptiva general se da en la Tabla V. En las muestras de mieles producidas en la Depresión Intermedia se determinó un pH más bajo ($3,48 \pm 0,13$) que en las producidas en Precordillera ($4,44 \pm 0,29$) (Tabla IV, Fig. 3). El porcentaje de humedad fue levemente mayor en las mieles de la Depresión Intermedia ($16,18 \pm 1,14$ %) que en las de Precordillera ($15,13 \pm 0,98$ %). La acidez libre de las mieles de la Depresión Intermedia fue de $26 \pm 3,68$ meq*kg⁻¹ y en las de Precordillera de $24,14 \pm 2,03$ meq*kg⁻¹; considerando la variabilidad, no es posible distinguir las mieles de las dos zonas con base en esta variable. El contenido de cenizas fue claramente menor en las mieles de la Depresión Intermedia ($0,21 \pm 0,04$ %) en comparación con las provenientes de Precordillera ($0,36 \pm 0,06$ %) (Fig. 3). Las mieles de ambas zonas presentaron valores muy bajos de HMF en relación con los valores permitidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile ($4,31 \pm 1,91$ mg*kg⁻¹ en la Depresión Intermedia, $2,82 \pm 0,99$ mg*kg⁻¹ en Precordillera). Las mieles de la Depresión Intermedia presentaron un color ligeramente más claro (ámbar claro a ámbar extraclaro) que aquellas producidas en Precordillera (ámbar a ámbar claro) (Tabla IV).

En todas las muestras se detectó la presencia de glucosa, fructosa y maltosa; en ninguna de las muestras estudiadas se evidenció la presencia de sacarosa.

TABLE II. Representación (%) de tipos polínicos encontrados en mieles del Valle central (M1-M6) y precordillera (San Fabián de Alico M7-M13). El * señala las especies nativas.
 TABLE II. Representation (%) of pollen types found in honeys from Central Valley (M1-M6) and Preandean foothills (San Fabián de Alico, M7-M13). The * shows native species.

TIPO POLÍNICO	DEPRESIÓN INTERMEDIA						PRECORDILLERA (SAN FABIÁN DE ALICO)						
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
Agavaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	-	-
Alismataceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alisma lanceolatum</i>	0,78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alliaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nothoscordium sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,16	0,66	-	-	-	-
Amaranthaceae	-	-	-	0,25	-	-	-	0,16	-	-	0,25	-	-
Anacardiaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lithrea caustica</i> *	-	-	-	-	-	-	-	0,74	-	-	-	1,40	-
Alstroemeriacae*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	0,08	0,16
Asparagaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pasithea coerulea</i> *	-	-	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apiaceae	-	-	-	-	-	-	-	0,16	1,24	0,66	-	-	-
<i>Daucus carota</i>	-	-	-	0,08	-	0,16	0,33	0,49	0,99	-	-	0,16	0,08
Asteraceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Anthemis arvensis</i>	-	0,50	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Carduus pycnocephalus</i>	-	-	-	0,08	-	-	-	-	0,66	-	-	-	-
<i>Chamomilla suaveolens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17	-	-
<i>Cichorium intybus</i>	-	-	-	-	-	-	0,17	-	-	-	-	-	-
<i>Crepis capillaris</i>	0,24	-	0,50	0,86	-	0,33	0,17	0,16	2,07	-	0,91	-	0,66
<i>Hedynois cretica</i>	-	-	-	0,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypochaeris radicata</i>	-	-	-	-	-	-	0,66	0,33	1,16	0,75	-	-	-
<i>Senecio vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,91	-	-	-
Boraginaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Echium (E. plantagineum, E. vulgare)</i>	4,78	6,04	23,0	7,14	5,57	4,84	9,59	5,89	2,98	14,6	19,1	42,7	22,7
Brassicaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brassica rapa</i>	0,16	-	0,25	4,00	0,42	0,57	-	-	-	-	0,99	-	-
<i>Capsella bursapastoris</i>	-	-	-	-	-	0,33	-	-	1,07	-	-	-	-
<i>Raphanus raphanistrum</i>	0,63	0,66	0,25	1,02	-	-	0,25	0,41	1,98	1,00	1,33	0,41	0,33
Elaeocarpaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aristolelia chilensis</i> *	-	1,74	2,40	0,71	2,41	1,31	6,86	3,76	2,89	5,40	2,57	2,38	3,95
Escalloniaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TIPO POLÍNICO	DEPRESIÓN INTERMEDIA													PRECORDILLERA (SAN FABIÁN DE ALICO)						
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M8	M9	M10	M11	M12	M13	
<i>Escallonia puberulenta</i> *	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,65	-	-	-	0,17	-	0,25
Euphorbiaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Colliguaja dombeyana</i> *	-	-	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	0,75	0,33	-	-	0,25
Fabaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Galega officinalis</i>	38,9	10,3	14,8	3,76	21,7	6,16	9,59	5,72	8,84	5,56	5,05	4,68	5,35	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lotus (L. corniculatus, L. uliginosus)</i>	28,5	5,63	2,49	17,6	25,1	12,1	39,8	8,09	6,45	13,2	18,7	14,3	32,8	-	-	-	-	-	-	-
<i>Medicago polymorpha</i>	2,04	6,95	5,55	1,73	5,15	11,2	1,40	5,89	5,62	8,14	13,1	9,29	7,32	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pisum sativum</i>	0,39	-	-	0,16	-	0,33	-	-	-	-	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Robinia pseudoacacia</i>	-	-	2,98	1,10	2,24	2,87	0,33	1,23	-	1,33	-	-	1,07	-	-	-	-	-	-	1,07
<i>Genista monspessulana</i>	-	-	-	-	-	-	1,07	0,98	0,74	2,66	2,32	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trifolium (T. arvense, T. repens, T. subterraneum)</i>	4,39	19,1	6,46	8,31	4,32	18,7	10,0	20,1	19,8	11,4	9,86	6,00	7,15	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vicia sativa</i>	0,78	-	-	-	0,25	-	1,16	-	2,56	-	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hypericaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypericum perforatum</i>	-	-	-	0,16	1,75	1,23	-	0,49	0,91	1,00	-	0,49	-	-	-	-	-	-	-	-
Lamiaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mentha pulegium</i>	0,08	-	-	0,16	0,67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mimosaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acacia dealbata</i>	-	-	-	0,39	-	-	0,17	4,91	0,41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Monimiaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peumus boldus</i> *	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Myrtaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus globulus</i>	11,8	35,7	22,2	14,7	3,91	7,14	2,31	2,04	4,38	3,57	2,32	1,15	0,41	-	-	-	-	-	-	-
<i>Luma apiculata</i> *	-	-	-	-	-	-	1,90	-	1,74	-	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-	-
Nothofagaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nothofagus dombeyi</i> *	-	-	-	-	-	-	0,08	0,25	-	-	0,08	-	-	-	-	-	0,08	-	-	-
Oxalidaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Oxalis</i> sp.	-	-	0,17	-	-	-	-	-	0,74	-	0,25	0,41	0,08	-	-	-	-	-	-	-
Papaveraceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eschscholzia californica</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pinaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pinus radiata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17	-	0,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Plantaginaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Plantago lanceolata</i>	-	-	-	-	-	-	0,41	1,23	-	1,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TIPO POLÍNICO	DEPRESIÓN INTERMEDIA										PRECORDILLERA (SAN FABIÁN DE ALICO)						
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13				
Poaceae	0,86	-	2,15	0,31	4,24	0,74	0,99	0,65	1,90	3,57	0,58	0,25	0,16				
Polygonaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Rumex</i> sp.	0,24	-	0,83	-	3,57	-	2,07	1,06	2,56	1,74	3,07	0,25	0,58				
Polypodiaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	-	-				
Primulaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Anagallis arvensis</i>	-	1,57	1,57	0,63	-	3,37	0,66	0,98	1,40	2,16	3,40	1,97	0,58				
Proteaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Gevuina avellana</i> *	-	-	-	-	-	-	0,17	0,25	0,58	1,83	0,17	1,15	-				
<i>Lomatia dentata</i> *	0,08	-	1,41	2,82	0,33	-	-	-	-	1,00	-	0,58	-				
<i>Lomatia hirsuta</i> *	-	-	-	-	-	-	0,33	1,23	0,99	1,25	0,66	0,90	0,25				
Ranunculaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Ranunculus muricatus</i>	-	-	-	-	-	-	1,40	-	1,57	-	1,41	-	-				
Rosaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Cydonia oblonga</i>	1,02	1,99	1,82	1,33	4,07	3,86	0,83	1,06	-	1,16	1,41	0,16	0,25				
<i>Crataegus monogyna</i>	0,71	-	-	1,57	-	-	-	-	1,65	-	-	-	-				
<i>Rosa rubiginosa</i>	2,35	-	2,32	0,71	4,24	3,20	3,39	3,11	3,06	3,07	5,30	0,33	0,33				
<i>Rubus ideaeus</i>	-	-	1,57	-	-	-	-	0,33	-	-	0,75	-	-				
<i>Rubus ulmifolius</i>	0,55	7,20	-	-	3,82	16,5	-	-	-	-	1,49	-	-				
<i>Quillaja saponaria</i> *	-	-	-	-	-	-	2,15	1,06	1,40	0,91	-	0,66	0,41				
Salicaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Salix humboldtiana</i> *	-	1,82	-	1,33	1,58	3,61	-	-	-	1,00	0,66	0,41	1,15				
<i>Salix matsudana</i>	0,31	0,75	0,99	-	1,33	0,33	0,08	1,14	-	2,99	0,08	0,74	-				
Solanaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Fabiana imbricata</i> *	-	-	3,40	-	-	-	0,25	0,82	-	2,57	0,91	0,16	0,49				
Scrophulariaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Verbascum thapsus</i>	0,47	-	-	0,55	-	0,66	1,07	-	5,87	1,41	1,24	0,74	1,56				
<i>Verbascum virgatum</i>	-	-	2,82	-	1,25	-	-	-	-	-	-	-	-				
Indet A	-	-	-	26,6	1,58	-	0,41	-	10,9	2,16	0,41	7,97	11,7				
Indet B	-	-	-	0,71	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Indet C	-	-	-	0,63	-	0,49	-	-	-	-	-	-	-				
Indet D	-	-	-	-	-	-	-	24,4	-	-	-	-	-				
Total %	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100				
Nº especies	22	14	22	32	24	23	32	35	34	31	37	29	26				
Nº de pólenes contados	1275	1208	1207	1275	1203	1218	1210	1223	1210	1204	1207	1217	1216				

ANÁLISIS MULTIVARIADO

La Fig. 4 muestra la distribución de las muestras analizadas en los dos primeros componentes principales, basada en los datos palinológicos. El análisis extrajo 8 componentes con valores propios mayores que 1, que en conjunto explican un 89% de la variabilidad de la matriz. Los primeros dos componentes explican 24 y 16% de la variabilidad, respectivamente (39%). Las muestras de mieles provenientes de la Depresión Intermedia se separan de las producidas en Precordillera a lo largo del primer componente; las muestras de la Depresión Intermedia se sitúan hacia el extremo negativo del primer componente mientras las producidas en Precordillera se sitúan hacia el extremo positivo. Las variables que presentaron los mayores vectores propios y que por tanto distinguen ambos grupos de mieles corresponden a las especies *Hypochaeris*

radicata L. (0,31), *Lomatia hirsuta* (0,28), *Verbascum thapsus* (0,28), *Quillaja saponaria* (0,26), *Daucus carota* L. (0,26), *Raphanus raphanistrum* (0,24), *Oxalis* sp. (0,23), *Cydonia oblonga* (-0,22), *Genista monspessulana* (0,21), *Aristotelia chilensis* (0,19), tipo *Eucalyptus* (-0,18). El análisis de componentes principales basado en datos fisicoquímicos extrajo 2 componentes con valores propios mayores que 1, que explican en conjunto un 68% de la variabilidad de la matriz (Fig. 5). Las muestras estudiadas se separan a lo largo del primer componente; las producidas en la Depresión Intermedia se sitúan hacia el extremo negativo del primer componente, mientras aquellas producidas en Precordillera se ubican en el extremo positivo. Los factores que más contribuyeron al primer componente son pH (0,57), contenido de cenizas (0,56), HMF (-0,41) y color (-0,42).

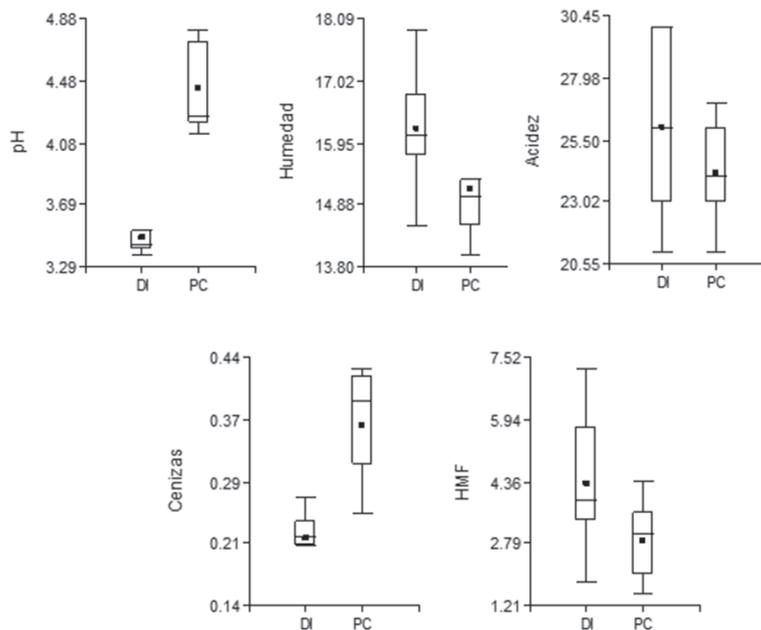


FIGURA 3. Gráficos de caja y bigote mostrando la variación en las variables fisicoquímicas entre mieles de la Depresión Intermedia (DI) y Precordillera (PC).

FIGURE 3. Box-plot showing variation of physicochemical variables among honeys from the Central Valley (DI) and Preandean foothills (PC).

TABLA III. Diversidad polínica en mieles del Valle central y Precordillera. S = riqueza de especies; H' = índice de Shannon-Weaver; J' = índice de equitabilidad.

TABLE III. Pollen diversity in honeys from the Central Valley and Preandean foothills. S = Species richness; H' = Shannon-Weaver index; J' = equitability index.

	S	H'	J'
Depresión Intermedia	44	2,66	0,70
Precordillera	57	2,87	0,71

TABLA IV. Características fisicoquímicas de mieles de la Depresión Intermedia (M1-M6) y zonas precordilleranas de la Cordillera de los Andes (M7-M13).

TABLE IV. Physicochemical characteristics of honeys from Central Valley (M1-M6) and foothills of the Cordillera de los Andes (M7-M13).

MUESTRA DE MIEL	pH	HUMEDAD	ACIDEZ	COLOR	CENIZAS %	HMF (mg*kg ⁻¹)
M1 DI	3,36	15,7	25	Ámbar claro	0,24	7,231
M2 DI	3,52	14,5	23	Ámbar extraclaro	0,15	3,608
M3 DI	3,46	16,3	27	Ámbar claro	0,21	1,804
M4 DI	3,40	17,9	21	Ámbar claro	0,27	5,734
M5 DI	3,72	15,9	30	Ámbar claro	0,23	3,346
M6 DI	3,40	16,8	30	Ámbar claro	0,21	4,147
M7 PC	4,15	15,0	24	Ámbar claro	0,31	2,163
M8 PC	4,81	15,3	23	Ámbar claro	0,40	1,984
M9 PC	4,22	14,5	27	Ámbar	0,39	3,555
M10 PC	4,67	17,1	25	Ámbar	0,42	1,497
M11 PC	4,21	14,8	23	Light amber	0,32	3,144
M12 PC	4,73	15,2	26	Ámbar claro	0,43	3,031
M13 PC	4,26	14,0	21	Ámbar claro	0,25	4,371

DI= Depresión Intermedia; PC= Precordillera

TABLA V. Estadística descriptiva de mieles producidas en la Depresión Intermedia (DI) y Precordillera (PC) de la Provincia de Ñuble, Chile.

TABLE V. Descriptive statistics of honey samples produced in the Central Valley (DI) and Preandean foothills (PC) of the Province of Ñuble, Chile.

	VARIABLE	n	MEDIA	DS	CV	MÍN	MÁX
DI	pH	6	3,48	0,13	3,79	3,36	3,72
DI	Humedad	6	16,18	1,14	7,04	14,5	17,9
DI	Acidez	6	26,00	3,69	14,18	21,00	30
DI	Cenizas	6	0,22	0,04	18,42	0,15	0,27
DI	HMF	6	4,31	1,91	44,36	1,80	7,23
PC	pH	7	4,44	0,29	6,45	4,15	4,81
PC	Humedad	7	15,13	0,98	6,45	14,00	17,1
PC	Acidez	7	24,14	2,04	8,43	21,00	27
PC	Cenizas	7	0,36	0,07	18,7	0,25	0,43
PC	HMF	7	2,82	1,00	35,38	1,50	4,37
Total	pH	13	3,99	0,54	13,62	3,36	4,81
Total	Humedad	13	15,62	1,15	7,35	14,00	17,90
Total	Acidez	13	25,00	2,94	11,78	21,00	30,00
Total	Cenizas	13	0,29	0,09	31,00	0,15	0,43
Total	HMF	13	3,51	1,62	46,14	1,50	7,23

CV = Coeficiente de variación; DS= Desviación estándar.

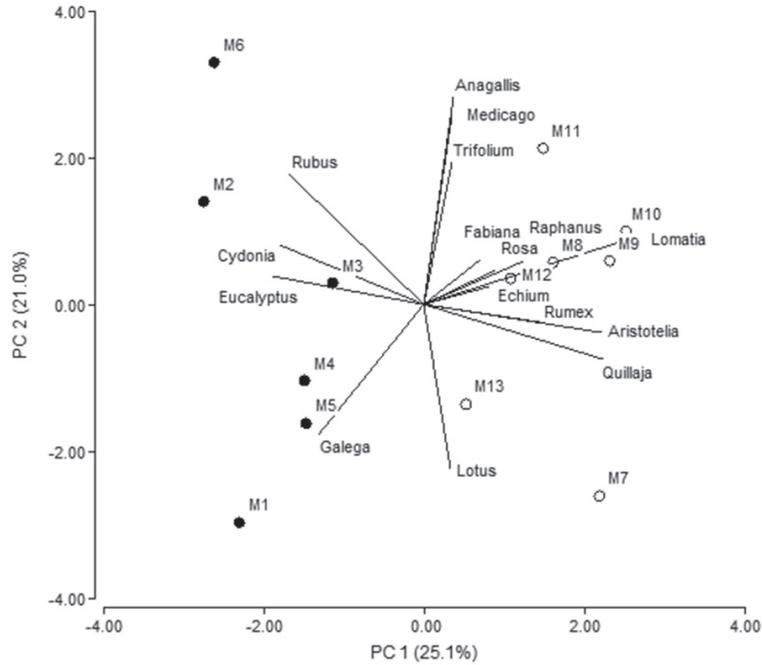


FIGURA 4. Muestras de miel de la Depresión Intermedia (círculos blancos) y Precordillera (círculos negros) proyectadas en el plano formado por los dos primeros componentes, basado en espectros polínicos. Coeficiente de correlación cofenética $r_{cc} = 0,87$.

FIGURE 4. Honey samples from Central Valley (white circles) and Preandean foothills (black circles) projected onto the first and second components of a PCA based on pollen spectra. A minimum spanning tree is superimposed. Cophenetic correlation $r_{cc} = 0.87$.

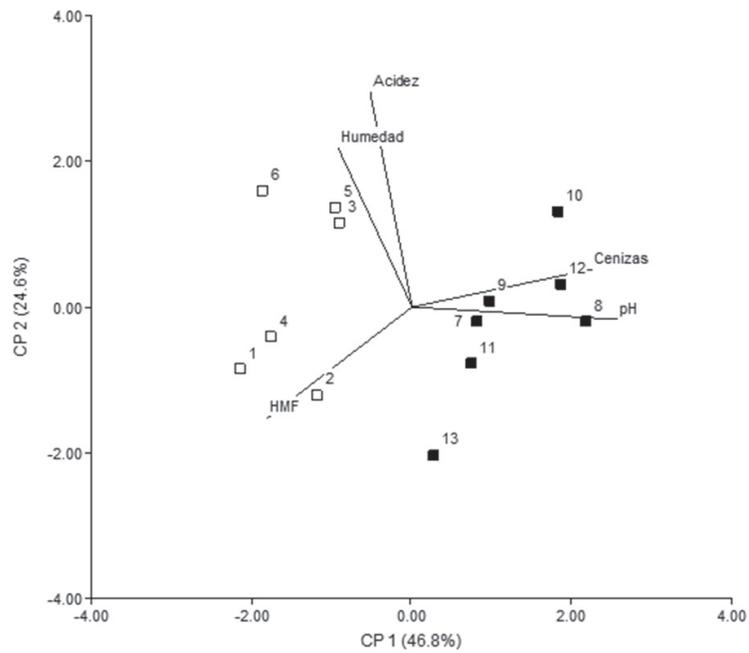


FIGURA 5. Muestras de miel de la Depresión Intermedia (cuadrados blancos) y Precordillera (cuadrados negros) proyectadas en el plano formado por los dos primeros componentes del PCA basado en datos fisicoquímicos. Coeficiente de correlación cofenética $r_{cc} = 0,86$.

FIGURE 5. Honey samples from Central Valley (white squares) and Preandean foothills (black squares) projected onto the first and second components of a PCA based on physicochemical data. Cophenetic correlation $r_{cc} = 0.86$.

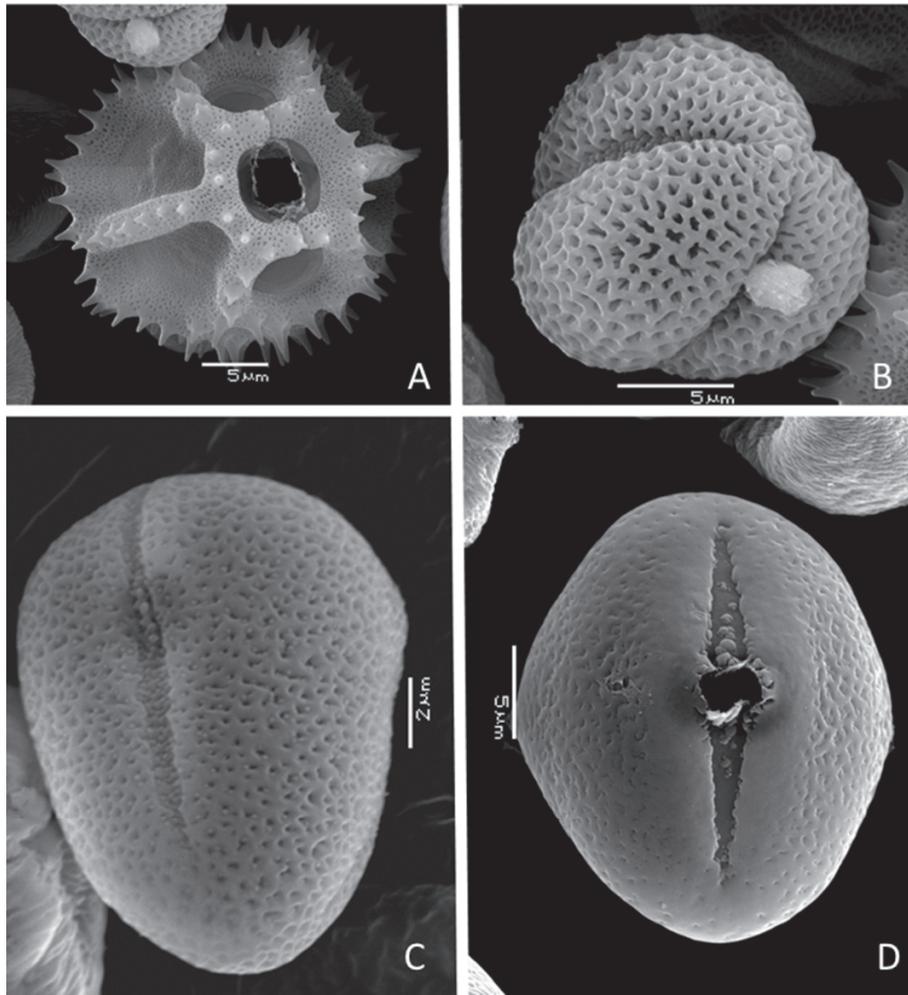


FIGURA 6. Algunos tipos polínicos encontrados en mieles de la Depresión Intermedia, Región del Biobío. A. *Crepis capillaris*. B. *Raphanus raphinistrum*. C. Tipo *Echium* (*E. plantagineum*, *E. vulgare*). D. *Trifolium repens*.

FIGURE 6. Some pollen types found in honeys from the Central Valley, Region of Biobío. A. *Crepis capillaris*. B. *Raphanus raphinistrum*. C. Tipo *Echium* (*E. plantagineum*, *E. vulgare*). D. *Trifolium repens*.

DISCUSIÓN

El alto grado de perturbación ambiental de Chile central se corresponde con los espectros polínicos dominados por especies introducidas, la mayor parte de origen europeo, en todas las muestras analizadas. Este hecho es particularmente notable para las mieles producidas en la Depresión Intermedia en comparación con las de Precordillera. No obstante, todas las mieles analizadas presentaron características fisicoquímicas que cumplen con los requisitos del Reglamento Sanitario de los Alimentos, Decreto Supremo 977/96 y del Codex Alimentarius Stan12-1981 (Codex 2001), lo que sugiere que en zonas con un alto grado de intervención antrópica, como la Depresión Intermedia de la Provincia de Ñuble, es posible producir

mieles comparables en calidad a aquellas producidas en zonas con menos intervención antrópica. Esto es importante porque en la Depresión Intermedia la apicultura se vislumbra como una opción agronómica atractiva para comunidades económicamente deprimidas del Secano Interior, que hacen uso de suelos degradados y de una vegetación efímera que se seca casi completamente en verano (Muñoz-Olivera *et al.* en prensa).

La diversidad polínica de las mieles estudiadas resultó relativamente alta (ca. 20 especies por muestra), aunque algunos tipos polínicos identificados no correspondieron a especies nectaríferas (plantas anemófilas de las familias Poaceae y Pinaceae). Así, pólenes de *Pinus* sp. fueron identificados en una muestra de miel producida en Precordillera, pero pólenes de Poaceae fueron observados en

mieles de ambas zonas. Especies ampliamente distribuidas de los géneros *Lotus*, *Echium*, *Galega*, *Medicago* y *Rosa* (*R. rubiginosa*) fueron utilizadas por la abeja melífera tanto en la Depresión Intermedia como en la Precordillera andina y no permiten la diferenciación de las mieles producidas. Por otra parte, especies nativas como *Quillaja saponaria*, *Lomatia hirsuta*, *Aristotelia chilensis*, *Lithraea caustica*, *Bomarea salsilla* y otras, que se encontraron exclusivamente en mieles de Precordillera, tienen un alto valor discriminante. A su vez, algunas especies alóctonas como *Cydonia oblonga*, *Alisma lanceolatum* (llantén de agua, Alismataceae) y *Eucalyptus* se encontraron exclusivamente en mieles de la Depresión Intermedia.

Varios tipos polínicos aparecen como pólenes secundarios o de importancia menor. Así, el tipo *Echium* aparece como polen secundario en 4 muestras de miel (1 de la Depresión Intermedia y 3 de Precordillera), mayormente asociado a los tipos *Lotus*, *Trifolium* y *Medicago*. Una de ellas (M12) alcanzó un porcentaje que, aunque no la define como miel monofloral, es importante (42,7%). La muestra M1 presentó valores altos de polen de dos especies (tipo *Lotus* y *Galega officinalis*) con porcentajes que, sin embargo, no permiten clasificarla como miel bifloral, pues la diferencia entre ambas especies supera el 5% (Montenegro *et al.* 2008). Por otra parte, la muestra M5 corresponde a una miel bifloral de *Lotus* y *Galega*. La miel M13 proveniente de San Fabián de Alico presentó como componentes principales pólenes de los tipos *Lotus* (32,8%) y *Echium* (22,7%); puesto que para que la miel de *Lotus* sea considerada monofloral se exige solamente un 20% de polen de este tipo, dada la baja cantidad de polen producida por estas especies, la muestra M13 puede considerarse una miel monofloral de *Lotus*. Lo mismo ocurre con la muestra M7, también proveniente de la zona precordillerana, que presentó un 39,8% de polen del tipo *Lotus* y que puede ser clasificada como monofloral.

Las características fisicoquímicas analizadas permitieron separar las mieles de ambas zonas, dado que ellas dependen de la flora visitada por las abejas además de las condiciones climáticas y edáficas (Ramírez & Montenegro 2004). Se ha intentado caracterizar mieles de la Depresión Intermedia de la Provincia de Ñuble utilizando compuestos volátiles (Gianelli *et al.* 2010), pero los autores demostraron que no es posible diferenciar las muestras de miel con estos métodos. Los azúcares son los componentes más importantes de la miel puesto que representan aproximadamente el 95 a 99% de la materia seca (Zandamela 2008); fructosa y glucosa son los más importantes (ca. 70 %). La ausencia de sacarosa y los bajos niveles de HMF encontrados demuestran que las mieles estudiadas no fueron adulteradas con la adición de azúcares comerciales (Estupiñán 1998). Todos los parámetros fisicoquímicos analizados se encuentran dentro de los rangos permitidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile.

Los análisis melisopalinológico y fisicoquímico

utilizados en combinación con métodos estadísticos multivariados permitieron caracterizar las muestras estudiadas y comparar las mieles de dos zonas con diferente clima y vegetación. Las mieles preandinas mostraron una mayor diversidad polínica que las mieles producidas en la Depresión Intermedia y también una mayor participación de elementos florales nativos. Todas las muestras mostraron buenos parámetros de calidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Asociación Gremial Biomiel A.G. que gentilmente aportó las muestras para este estudio. A Janicia Venegas por su colaboración en los análisis de laboratorio. A Alicia Marticorena, Patricio López y dos revisores anónimos por sus valiosas sugerencias para mejorar este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- ABU-TARBOUSH, H., H. AL-KATANI & M. EL-SARRAGE. 1993. Floral-type identification and quality evaluation of some honey types. *Food Chemistry* 46: 13-17.
- ANKLAM, E. 1998. A review of analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry* 63: 549-562.
- ANKLAM, E. & B. RADOVIC. 2001. Suitable analytical methods for determining the origin of European honey. *American Laboratory* 5: 60-64.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161(2): 105-121.
- ARONE, G. & V. DE MICCO. 2010. Traditional melissopalynology integrated by multivariate analysis and sampling methods to improve botanical and geographical characterization of honeys. *Plant Biosystems* 144: 833-840.
- ARRIAGADA, V.H. 2008. Morfología del polen de la flora melífera en el espinal de *Acacia caven*, comuna de San Nicolás, Provincia de Ñuble, Región del Bío-Bío, Chile. Tesis Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile. 30 pp.
- ARROYO, M.T.K. 1999. Criterios e indicadores para la conservación de la biota en ecosistemas mediterráneos. *Revista Chilena de Historia Natural* 72: 473-474.
- BOETTCHE, J. 1998. Análisis físico, químico y botánico de miel de abeja (*Apis mellifera* L.) de la zona de Chiloé. Tesis Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 146 pp.
- CODEx. 2001. Codex Standard for Honey. CODEX STAN 12-1981. Codex Alimentarius Commission. FAO/OMS. Rome, Italy. 8 pp.
- CORBELLA, E. & D. COZZOLINO. 2008. Combining multivariate analysis and pollen count to classify honey samples accordingly to different botanical origins. *Chilean Journal of Agricultural Research* 68: 102-107.

- CORVUCCI, F., L. NOBILI, D. MELUCCI & F. GRILLENZONI. 2015. The discrimination of honey origin using melissopalynology and Raman spectroscopy techniques coupled with multivariate analysis. *Food Chemistry* 169: 297-304.
- CROMPTON, C.W. & W.A. WOJAS. 1993. Pollen grains of Canadian honey plants. Frances Smith. Ottawa, Canada. 228 pp.
- DEL POZO, A. & P. DEL CANTO. 1999. Áreas agroclimáticas y sistemas productivos en la VII y VIII regiones. Serie Quilamapu N°113. INIA Quilamapu. Chillán, Chile. 114 pp.
- DIAZ, C. 2003. Determinación del origen floral y caracterización física y química de mieles de abeja (*Apis mellifera* L.) etiquetadas como miel de ulmo (*Eucryphia cordifolia* Cav.). Tesis Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 91 pp.
- DI RIENZO J., F. CASANOVES, M. BALZARINI, L. GONZÁLEZ, M. TABLADA & C. ROBLEDO. 2015. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DOWNEY, G., K. HUSSEY, J. KELLY, T. WALSH & P. MARTIN. 2005. Preliminary contribution to the characterization of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. *Food Chemistry* 91: 347-354.
- DUSTMANN, J. & K. VON DER OHE. 1993. Scanning electron microscopic studies on pollen from honey. IV. Surface pattern of pollen of *Sapium sebiferum* and *Euphorbia* spp. (*Euphorbiaceae*). *Apidologie* 24: 59-66.
- ERDTMAN, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms. Almqvist & Wiksell. Waltham, USA. 539 pp.
- ESTUPIÑAN, S., E. SANJUAN, R. MILLAN & M.A. GONZÁLEZ-CORTES. 1998. Quality parameters of honey. II. Chemical composition. A review. *Alimentaria* 297: 117-122.
- EUROPEAN UNION DIRECTIVE. 2002. European Union Directive, Council Directive 2001/110/EC relating to honey.
- FINOT, V. 1997. Estudio florístico de las malezas de la provincia de Ñuble. *Agro-Ciencia* 13: 203-216.
- FINOT, V., C. MARTICORENA, J. BARRERA, M. MUÑOZ-SCHICK & M. NEGRITTO. 2009. Diversidad de la familia Poaceae (*Gramineae*) en la Región del Biobío, Chile, basada en colecciones de herbario. *Gayana Botánica* 66: 134-157.
- FINOT, V., J. BARRERA, C. MARTICORENA & G. ROJAS. 2011. Systematic diversity of the family Poaceae (*Gramineae*) in Chile. In: O. Grillo & G. Venora (eds.), *The Dynamical Processes of Biodiversity - Case Studies of Evolution and Spatial Distribution*. pp 71-108. In-Tech Open Access, Rijeka, Croatia.
- FORCONE, A., P. ALOISI & M. MUÑOZ. 2009. Palynological and physico-chemical characterization of honeys from the north-west of Santa Cruz (Argentinean Patagonia). *Grana* 48: 67-76.
- FREDES, C. & G. MONTENEGRO. 2006. Contenido de metales pesados y otros elementos traza en mieles de abeja en Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 33: 57-66.
- GAJARDO, R. 1994. La vegetación natural de Chile. Clasificación y distribución geográfica. Editorial Universitaria, Santiago de Chile. 165 pp.
- GIANELLI, M., M. PONCE-DÍAZ, and C. VENEGAS-GALLEGOS. 2010. Volatile compounds in honey produced in the Central Valley of Ñuble Province, Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research* 70: 75-84.
- GONZÁLEZ, S., R. RODRÍGUEZ & P. ARRIAGADA. 1992. Plantas de interés apícola en un sector de la Provincia de Ñuble, Chile. *Agro-Ciencia* 8: 21-26.
- HEUSSER, C. 1971. Pollen and spores of Chile: modern types of the Pteridophyta, Gymnospermae, and Angiospermae. University of Arizona Press. Tucson, USA. 167 pp.
- LORENZO, C. DE. 2002. El origen botánico de la miel: el análisis melisopalínológico. En: M. Guadalix, C. de Lorenzo, M.M. González, T. Navarro, M.T. Iglesias, R.A. Pérez, M.L. Sanz, I. Martínez-Castro, E. Pueyo, M. Polo, A.C. Soria y J. Sanz (eds.). *La miel de Madrid*. Pp. 73-94. Consejería de Economía e Innovación Tecnológica. Madrid, España.
- LOUVEAUX, J., A. MAURIZIO & G. VORWOHL. 1978. Methods of melissopalynology. *Bee World* 59: 139-157.
- MARTICORENA, C. 1990. Contribución a la estadística de la flora vascular de Chile. *Gayana Botánica* 47: 85-113.
- MARTINS, R., V. LOPES, P. VALENTAO, J. CARVALHO, P. ISABEL, M. AMARAL, M. BATISTA, P. ANDRADE & B. SILVA. 2008. Relevant principal component analysis applied to the characterization of Portuguese heather honey. *Natural Product Research* 22: 1560-1582.
- MATTHEI, O. 1995. Manual de las malezas que crecen en Chile. Alfabeto Imp., Santiago de Chile. 545 pp.
- MAURIZIO, A. 1975. Microscopy of honey. In: E. Crane (ed.), *Honey: A comprehensive survey of honey*. Pp. 240-257. Heinemann, London, England.
- MEJÍAS, E. & G. MONTENEGRO. 2012. The antioxidant activity of Chilean honey and bee pollen produced in the Llaima volcano's zones. *Journal of Food Quality* 35: 315-322.
- MINSAL (Ministerio de Salud, República de Chile). 1996. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Dto. 977/96.
- MITTERMEIER, R., P. GIL, M. HOFFMANN, J. PILGRIM, T. BROKS, C. MITTERMEIER, J. LAMOREUX & G. DA FONSECA. 2004. Hotspots revisited: Earth's biologically wealthiest and most threatened ecosystems. *CEMEX, Mexico, D.F.* 390 pp.
- MOLAN, P.C. 1998. The limitations of the methods of identifying the floral source of honeys. *Bee World* 79: 59-68.
- MONTENEGRO, G. & C. FREDES. 2008. Relación entre el origen floral y el perfil de elementos minerales en mieles chilenas. *Gayana Botánica* 65: 122-125
- MONTENEGRO, G., M. GÓMEZ & G. ÁVILA. 1992. Importancia relativa de especies cuyo polen es utilizado por *Apis mellifera* en el área de la Reserva Nacional Los Ruiles, VII Región de Chile. *Acta Botánica Malacitana* 17: 167-174.
- MONTENEGRO, G., M. GÓMEZ, J. DÍAZ-FORESTIER & R. PIZARRO. 2008. Aplicación de la Norma Chilena Oficial de denominación de origen botánico de la miel para la caracterización de la producción apícola. *Ciencia e Investigación Agraria* 35: 181-190.
- MONTENEGRO, G., A. MUJICA, R. PEÑA, M. GÓMEZ, I. SEREY & B. TIMMERMANN. 2004. Similitude pattern and botanical origin of the Chilean propolis. *Phyton* 73: 145-154.
- MONTENEGRO, G., R. PEÑA & R. PIZARRO. 2010. Multivariate analysis of pollen frequency of the native species *Escallonia pulverulenta* (*Saxifragaceae*) in Chilean honeys. *Revista Brasileira de Botânica* 33: 615-630.
- MONTENEGRO, G., R. PIZARRO, G. ÁVILA, R. CASTRO, C. RÍOS, O. MUÑOZ, F. BAS & M. GÓMEZ. 2003. Origen botánico

- y propiedades químicas de las mieles de la región mediterránea árida de Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 30: 161-174.
- MONTENEGRO, G., F. SANTANDER, C. JARA, G. NÚÑEZ & C. FREDES. 2013. Actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 12: 257-268.
- MONTENEGRO, G., M. SCHUCK, A. MUJICA & S. TEILLIER. 1989. Flora utilizada por abejas melíferas (*Apis mellifera*) como fuente de polen en Paine, Región Metropolitana, Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 16: 47-53.
- MONTENEGRO, S., C. AVALLONE, A. CRAZOV, & M. AZTARBE. 2005. Variación del color en miel de abeja (*Apis mellifera*) [en línea]. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/7-Tecnologia/T-070.pdf>. Consulta: 17 mayo 2012].
- MUÑOZ-OLIVERA, G., C. NAVARRETE, V. ARRIAGADA, J. BECERRA, G. WELLS, J. ALARCÓN & V. FINOT. Caracterización botánica de mieles del secano interior de la Provincia de Ñuble, Región del Biobío, Chile. *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences*, en prensa.
- MYERS, N., R. MITTERMEIER, C. MITTERMEIER, G. DE FONSECA & J. KENT. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- NOZAL, M., J. BERNAL, J. DIEGO & E. MARTÍN. 2005. Classifying honeys from the Soria Province of Spain via multivariate analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 382: 311-319.
- PIELOU, E.C. 1969. *An introduction to mathematical ecology*. Wiley Interscience, John Wiley & Sons, New York. 285 pp.
- PUNT, W., P.P. HOEN, S. BLACKMORE, S. NILSOON AND A. LE THOMAS. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Paleobotany and Palynology* 143: 1-81.
- RAMÍREZ, M. 2004. Variación en la composición de la fracción polínica de las mieles de Villarrica, IX Región, producidas durante tres temporadas consecutivas. Tesis Agronomía, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 28 pp.
- RAMÍREZ, R. & G. MONTENEGRO. 2004. Certificación del origen botánico y polen corbicular perteneciente a la comuna de Litueche, VI Región de Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 31: 197-211.
- ROUGIER, D., B. TIMMERMANN, E. FUENTES, L. YATES, F. BAS & G. MONTENEGRO, G. 1994. Relación entre la selectividad de la abeja melífera (*Apis mellifera*) y el contenido de proteína cruda del grano de polen. *Diagnóstico en la flora nativa de Chile. Ciencia e Investigación Agraria* 21: 47-52.
- SAHINLER, S., N. SAHINLER & A. GUL. 2009. Determination of honey botanical origin by using discriminant analysis. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8: 488-491.
- SAJWANI, A., S. FAROOQ, A. PATZELT, E. ELTAYEB & V. BRYANT. 2007. Melissopalynological studies from Oman. *Palynology* 31: 63-79.
- SANT'ANA, L., J. SOUSA, F. SALGUEIRO, M. LORENZON & R. CASTRO. 2012. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. *Journal of Food Science* 77: C135-140.
- SHANNON, C.E. & W. WEAVER. 1949. *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana, Illinois. 125 pp.
- SORIA, A.C., M. GONZÁLEZ, C. DE LORENZO, I. MARTÍNEZ-CASTRO & J. SANZ. 2004. Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. *Food Chemistry* 85: 121-130.
- STOLPE, N. 2006. *Descripciones de los principales suelos de la VIII Región de Chile*. Universidad de Concepción. Chillán, Chile. 84 pp.
- TENEBA, E., L.A. CAVIERES, M.J. PARRA & A. MARTICORENA. 2004. Patrones geográficos de distribución de árboles y arbustos en la zona de transición climática mediterráneo-templada de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 51-71.
- VÁSQUEZ, C. 2010. *Caracterización de mieles de San Pedro de Atacama basada en análisis físicos, químicos y melisopalínológicos*. Tesis Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 124 pp.
- VILLAGRÁN, C. & C. LE QUESNE. 1996. El interés biogeográfico-histórico de Chile central-sur: ¿Por qué debemos conservar su biota? En: M. Muñoz, H. Núñez & J. Yáñez (eds.), *Libro rojo de los sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad biológica en Chile*. Pp. 160-172. Ministerio de Agricultura. Corporación Nacional Forestal. Santiago, Chile.
- ZANDAMELA, E.M. 2008. *Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique*. Tesis Doctor en Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España. 241 pp.

Recibido: 05.01.16
 Aceptado: 30.08.16