



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Dirección General de Investigación



INFORME FINAL

Potencial bioactivo de las mieles y análisis nutricional de la miel y del polen de las abejas nativas sin aguijón Talnete (*Trigona Geotrigona acapulconis*; Strand, 1917) y Culo de chucho (*Trigona Trigona fulviventris*; Guérin, 1845)

EQUIPO DE INVESTIGADORES

Licda. Antonieta Rodas Retana; Coordinadora.
Licda. Eunice Enríquez; Investigadora
Br. Carlos Maldonado Aguilera; Auxiliar de investigación

Guatemala 8 de Enero de 2009

Resumen

Las abejas sin aguijón son nativas de los de las regiones tropicales y subtropicales del mundo; en América, por mucho tiempo fueron las únicas abejas presentes, lo que propició una relación muy importante entre los nativos de esta región y las abejas. Los nativos de la región Mesoamericana les atribuían varias propiedades curativas a los distintos productos de las colmenas de estas abejas, siendo algunas de las propiedades aún reconocidas por los campesinos. Esta propuesta surge a raíz del uso terapéutico que tradicionalmente se le da a la miel de estas especies y al hecho de que estas mieles se comercializan de manera informal debido a esas propiedades. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la bioactividad específica (actividad bactericida o bacteriostática) de las mieles de dos especies de hábito subterráneo, así como la determinación de las propiedades nutricionales y sensoriales de su miel y polen. Se determinó que la miel de *Trigona fulviventris* presenta mayor actividad antibacteriana que la miel de *Trigona Geotrigona acapulconis*; que ambas mieles presentan actividad bacteriostática a una concentración del 25% y actividad bactericida a concentraciones mayores del 50%. Se determinaron la propiedades nutricionales y sensoriales de la miel y el polen de ambas especies de nidos subterráneos. Así mismo, se espera que esta investigación contribuya a la conservación y uso sustentable de los meliponinos de Guatemala.

Antecedentes

Abejas sin aguijón

Las abejas que se incluyen en este grupo pertenecen a la familia Apidae, que se caracteriza por presentar palpos maxilares vestigiales, área genal ancha, corbículas en las patas traseras, no poseen placa pigidal y son eusociales (Borror, 1992). Dentro de la subfamilia Apinae, se encuentra la tribu Meliponini, con alrededor de 500 Especies en todo el mundo. (Michener, 2000).

Las especies de Meliponinos se encuentran ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Se hallan en todos los continentes, excepto en Europa. Las del género *Melipona* son exclusivas del Nuevo Mundo. En América existe una gran variedad de estos insectos, los cuales tienen su máxima representación en el sur de Brasil. Se encuentran en toda América del Sur, excepto en Chile. También habitan toda Centro América. El Neotrópico contiene el 70% de las especies de abeja sin aguijón (Michener, 2000). En Guatemala, estas especies se encuentran en todo el territorio y se reporta un total de 33 especies con poco esfuerzo de colecta. (Yurrita et. al, 2004). De estas, solamente 2 especies tienen nidos subterráneos, *Trigona (Geotrigona) acapulconis* y *Trigona fulviventris* (Com. pers. Enríquez, 2009).

***Trigona (Trigona) fulviventris* (Guérin, 1845), Culo de chucho**

Abeja negra con el metasoma anaranjado; longitud del cuerpo de 5.9-6.1 mm; longitud del ala anterior 6.4-6.7mm; mandíbulas con cuatro dientes en el margen distal; clipeo negro con pelos erectos tan grandes como el área frontal; escapos con la superficie anterior pardo oscuro; mesosoma con pelos cortos densos blanquecinos y negros largos intercalados; alas pardas (no oscurecidas); patas con *keirotichia* en el basitarso posterior cubriendo sólo un poco más de un tercio de la superficie; metasoma anaranjado o anaranjado rojizo, muy ocasionalmente negro (Ayala, 1999).

Esta abeja es de amplia distribución, ya que se encuentra en toda Guatemala. Los campesinos no han reportado el uso de los productos de la colmena de esta especie (Com. Pers. E.Enríquez, 2009)

***Trigona (Geotrigona) acapulconis* (Strand, 1917), Talnete**

Abeja enteramente negra, con pubescencia blanquecina sobre gran parte del cuerpo, excepto en el vértex, escuto y escutelo; longitud del cuerpo 6.2 mm; alas con venas negras, con la superficie oscura pero translúcida; patas completamente negras; tibia posterior con forma de raqueta, con el margen distal posterior ampliamente redondeado, con la corbícula cubriendo el tercio distal; metasoma robusto, aproximadamente tan ancho como largo, no digitiforme.

Es una abeja con distribución restringida, solamente se encuentra en el oriente de Guatemala. Se tienen registros de esta abeja en Santa Rosa, Chiquimula y Jutiapa. Los campesinos del oriente de Guatemala le atribuyen propiedades medicinales a la miel de esta especie. La utilizan para curar afecciones oculares y para curar golpes internos y fracturas. Ellos comentan que es una miel muy fuerte y muy ácida; y no utilizan el polen.

Estructura del nido de las abejas subterráneas

La entrada del nido está formada por una especie de cerumen (cera con resina) marrón oscuro, aprovechando algunas veces material mineral, con franjas en la parte inferior; el orificio es circular y amplio, algunas veces forma un tubo largo y delgado. El túnel de acceso comunica la piquera con el interior del nido (bajo tierra), de un largo que puede llegar a los 50cm; el túnel está construido con barro y resina. El túnel desemboca en un laberinto construido con pilares de materia mineral y resina, tomando una apariencia petrificada y de consistencia quebradiza. El nido en sí es de un máximo de 92cm de diámetro, cubiertos de una fuerte estructura envolvente para protegerlos de invasores, como hormigas. Los potes de alimento están localizados en la parte superior de los nidos, próxima al laberinto de la entrada, cubiertos de materia mineral y resina. Constituyen un aproximado de 20% del volumen total del nido (Alves et al, 2003).

Explotación de las abejas sin aguijón

En la época prehispánica, algunas especies de abejas nativas sin aguijón de México tuvieron gran importancia en su explotación: por ejemplo los Totonacas, en el centro del país, cultivaron algunas especies, principalmente *S. mexicana*, que en la región de Soconusco, Chiapas, se le conoce comúnmente como “congo”; en tanto que los Mayas cultivaron a *Melipona beecheii*, lo que en la región se le conoce a esta abeja como “abeja real” (Guzmán, 2003).

Los mayas encontraron en la meliponicultura -crianza de abejas sin aguijón- elementos importantes para su nutrición, farmacopea, comercio y religión. En sus meliponarios, que consistían en grandes chozas, resguardaban a sus abejas de los factores físicos como la lluvia, el viento y el sol; alojaban centenas y hasta miles de colonias de Xunan kab o abeja real, que en esos tiempos eran muy abundantes (Guzmán, 2003).

En Guatemala, la miel de las abejas sin aguijón se ha utilizado para diversos fines, entre los que podemos contar: para curar padecimientos de la vista (catarata y pterigión), como cicatrizante, para tratamiento en caso de quemaduras, para reconstituyente pulmonar, en caso de dolores pulmonares y como alimento (Enríquez,

et al., 2002).

Debido a la falta de conocimiento sobre el polen, cera y propóleo de las abejas sin aguijón, no se han podido explotar como la miel.

La miel de los Meliponinos

Durante toda la existencia de la humanidad, la miel fue prácticamente su única fuente de sustancias azucaradas, más precisamente, azúcares en solución. Hasta hoy la miel es un gran abastecedor de azúcares simples en condiciones naturales (Nogueira-Neto, 1997).

Los resultados de los análisis físico-químicos de las mieles de abejas sin aguijón pueden variar: se sitúa entre 0.1 y 1.0 μm de absorbancia con una predominancia entre 0.3 y 0.6, intervalo que corresponde a los colores ámbar y ámbar claro. La cantidad de agua varía de 18 a 30% (Cortopassi-Laurino, 1991). Los valores medios de acidez varían de 30.40 a 48.27 meq/kg miel. El promedio más alto de contenido de agua es presentado por la miel de *M. lateralis kangarumensis* (28.83). En general, la acidez promedio de las mieles de abejas sin aguijón es más alto que el de *A. mellifera*. Las especies del género *Trigona* producen una miel más ácida que la miel de los géneros *Scaptotrigona* y *Melipona*. La cantidad de ceniza y la conductividad eléctrica son parámetros relacionados con el contenido mineral de las mieles; en estos estudios, se ha observado que las mieles de abejas sin aguijón tienen una conductividad eléctrica más alta que la de la miel de *Apis*, y que la miel de de las *Trigonas* presenta la mayor conductividad y mayor contenido de cenizas (Vit, 1998). Todas estas características físico-químicas de la miel son determinantes en su efecto antibacteriano (Nogueira-Neto, 1997).

Las mieles de los meliponinos se han utilizado con fines terapéuticos por muchos siglos en la región mesoamericana (prueba de ello es lo relatado en el Código Maya de Madrid); también se utilizaba en los rituales y ceremonias religiosas. Ahora se ha logrado iniciar un listado que incluye una serie de estándares de calidad para la miel de los meliponinos, ya que se debe iniciar una base de datos con las propiedades tanto físicoquímicas como terapéuticas validadas para lograr que este producto tenga un apartado en el Codex alimentarius (esto es debido a que la miel de meliponinos no puede ser incluida como "miel" en dicho Codex, ya que define la miel como producto de la abeja melífera) (Vit, 2005).

Actividad antibacteriana de la miel de abejas sin aguijón

Desde el punto de vista microbiológico, la miel de abejas es un producto saludable porque no contiene microorganismos que representen un peligro para la salud humana. Una característica peculiar de la miel de abejas es su capacidad de impedir la multiplicación de casi cualquier microorganismo, generalmente inactivándolo gracias a su particular composición. Destaca el elevado contenido en azúcares, bajo contenido de agua libre y de humedad, bajos valores de pH (3.5-5.5), bajo potencial de oxidoreducción, bajo contenido de Nitrógeno, presencia de vitaminas, sales minerales y sustancias con actividad antibacteriana entre las que se cuentan el peróxido de hidrógeno y los flavonoides (Prandin, 2000).

En cuestión de actividad antibacteriana, no hay diferencia entre las mieles de *Melipona*,

pero cuando se comparan con la actividad de *A. mellifera*, se observa una mayor actividad por parte de las mieles de abejas sin aguijón; al principio se creyó que esto se debía a la alta osmolaridad, pero se observó esta actividad también luego de ser diluida la miel (Vit, 1994).

Se han observado diferencias significativas en el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano entre la miel de *Tetragonisca angustula* y el de *A. mellifera*, siendo la miel de *T. angustula* la que presenta mayor actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano (Demera, 2004). Esto mismo se observa cuando se clasifican las bacterias por el grado de inhibición de crecimiento, encontrándose que las mieles de Meliponinos presentan un grado mayor de inhibición que el que presenta *A. mellifera* (Cortopassi-Laurino, 1991). Las propiedades bacteriostáticas son predominantes sobre las propiedades bactericidas. Los estudios revelan que la actividad bactericida de *A. mellifera* es de 30.7%, mientras que la de los Meliponinos es de 40.8%, siendo la bacteria más sensible *Bacillus stearothermophilus* y la más resistente *Escherichia coli*. Cuando se compara esta propiedad entre la miel del género *Melipona* y la del género *Trigona*, las *Trigonas* presentan una actividad más grande que lo del género *Melipona* (Cortopassi-Laurino, 1991).

Al comparar la actividad antibacteriana de ciertas mieles de abejas sin aguijón y la miel de abeja africanizada con Norfloxina (un antibiótico del grupo de las fluoroquinolonas) se encontró que las distintas mieles tenían una capacidad similar para inhibir el crecimiento de ciertas bacterias, pero fue una inhibición menor a la provocada por el antibiótico (Martins, 1997).

Cuando se habla de la miel, los términos “bactericida” y “bacteriostático” son relativos y se utilizan indiferentemente, ya que, como explicaron Cortopassi-Laurino y Gelli en 1991, las mieles pueden tener efectos bacteriostáticos con unas bacterias y un efecto bactericida con otras (Nogueira-Neto, 1997); aunque se ha comprobado que la miel de *Scaptotrigona* presenta una positiva actividad antibacteriana en pruebas efectuadas sobre *Staphylococcus aureus* (Grajales et. al., 2001).

Polen de meliponinos

Al igual que en el caso de las abejas melíferas, las abejas sin aguijón colectan el polen directamente de las anteras de las flores, el polen de las flores se aglutina con néctar y sustancias salivares hasta formar gránulos, cargas de polen, que son depositadas en las corvículas para su transporte hacia la colmena, en donde son utilizados como alimento para las mismas abejas (Villota, 1999). Se ha reportado para el polen de las abejas melíferas que presenta un 26% de proteína, vitaminas A, C, E, M, B₁, B₂, B₃, B₆ y B₁₂. Sus componentes minerales son principalmente fósforo, potasio, cloro, cobre, sodio, silicio, azufre y titanio. Además contiene 11% de aminoácidos esenciales libres y 29% de azúcares reductores (Root, 2005)

Descripción de la bacteria *Streptococcus* β -hemolítico del grupo A

Los individuos pertenecientes al género *Streptococcus* (del griego στρεπτος [streptos]: collar y κοκκος [cocos]: baya) pertenecen a la familia Streptococcaceae. El género está representado por cocos grampositivos no esporulados, aerobios facultativos, casi siempre inmóviles. El nombre del género deriva del hecho de que este germen tiende a

disponerse en secuencias ordenadas que recuerdan un collar o una cadenilla, pero pueden encontrarse en pares o en grupos de cuatro individuos. El aspecto más característico es el de cadenas de diplococos. La longitud de la cadena, contrario a lo que se venía pensando, no tiene relación con la virulencia (Nicoletti, 1990).

Para su crecimiento, los estreptococos requieren medios especialmente enriquecidos, en especial con sangre o con suero. Sobre los medios con sangre los estreptococos pueden mostrar varios tipos de actividad hemolítica. La β -hemólisis se caracteriza por un halo claro, incoloro en torno a la colonia, en el cual los eritrocitos han sufrido una lisis completa (Nicoletti, 1990).

La clasificación de los estreptococos no resultaba fácil ni del todo satisfactoria, ya que se basaba exclusivamente sobre las características fisiológicas y bioquímicas. Actualmente se clasifican también en grupos serológicos. Los grupos serológicos, en general, están relacionados con la epidemiología de las infecciones producidas. El grupo A fue considerado una vez como el único grupo de importancia médica notable. Los estreptococos de este grupo son especialmente patógenos para el hombre; entre las enfermedades que pueden producir podemos incluir: (a) infecciones respiratorias: faringo-tonsilitis, otitis media, mastoiditis, sinusitis, laringotraqueítis, bronquitis, broncopulmonías; (b) infecciones cutáneas: piodermitis, erisipela, infecciones en heridas; (c) sepsis y endocarditis; (d) escarlatina; (e) meningitis neonatal; (f) infecciones en vías genitourinarias; (g) caries; (h) glomerulonefritis aguda; (i) secuelas post estreptocócicas (Nicoletti, 1990).

Justificación del estudio

Este estudio pretende contribuir en el conocimiento sobre las abejas sin aguijón, en particular sobre el uso que se le da a los productos de las colmenas. Se ha reportado que las mieles de talnete y la de culo de chucho (comercializadas informalmente) son consumidas por los campesinos y utilizadas por sus propiedades nutricionales como por las medicinales. A su vez, los campesinos consumen el polen, por su valor nutricional, no por su gusto (que es sumamente amargo), por lo que, lo consumen solamente si se encuentran enfermos o convalecientes (Enríquez et al, 2005).

Con esta investigación se pretende potenciar, la miel y el polen de estas especies, como alimentos alternativos, que brinden una nutrición de calidad, que presenten beneficios a la salud de la población en general y, al mismo tiempo, beneficie a los criadores y propicie la crianza tecnificada y la consecuente protección de las abejas silvestres.

En la actualidad no se han realizado estudios sobre las propiedades nutricionales ni sensoriales del polen de meliponinos; y considerando que las abejas sin aguijón son de potencial importancia económica y especies nativas de Guatemala, tienen prioridad como grupo a ser estudiado, aunado al potencial de desarrollo biotecnológico que se podría dar alrededor de los productos de las colmenas de este grupo taxonómico (CONAP, 2004).

Las abejas de nidos subterráneos son aun desconocidas, ya que son principalmente silvestres. Por lo que es importante generar conocimiento sobre la miel y el polen de estas especies, que no han sido estudiadas ampliamente y se desconocen sus potenciales en muchos aspectos.

El *Streptococcus β -hemolítico del grupo A* es causante de afecciones a nivel del tracto respiratorio, entre otras, especialmente en la población infantil en el interior de la

república; pudiendo servir esta investigación para brindar un tratamiento natural, con propiedades antibacterianas validadas científicamente, que pueda servir como tratamiento contra patógenos bacterianos y, también, como estimulador para el sistema inmune (Molan,2001). Por ultimo, al utilizar la metodología de medición de halos de inhibición para determinar si las mieles presentan bioactividad, será posible comparar con antibióticos, ya que la técnica es la misma.

Objetivos

Generales

1. Evaluar la actividad antibacteriana de la miel de *Trigona (Geotrigona) acapulconis* y *Trigona (Trigona) fulviventris* sobre una cepa de *Streptococcus*.
2. Determinar las propiedades nutricionales y sensoriales de las mieles de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.

Específicos

1. Comparar la actividad antibacteriana de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris* a cuatro concentraciones distintas.
2. Determinar la bioactividad específica de las mieles de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.
3. Determinar las propiedades nutricionales de la miel de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.
4. Determinar las propiedades sensoriales del polen de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.
5. Comparar las propiedades sensoriales de la miel de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.
6. Determinar las propiedades nutricionales del polen de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.
7. Determinar las propiedades sensoriales del polen de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.

Hipótesis

Las mieles de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris* presentan actividad antibacteriana sobre una cepa de *Streptococcus β -hemolítico del grupo A*.

Metodología

Diseño

Universo: colmenas de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris* de Pueblo Nuevo Viñas y de Jutiapa.

Muestra: 5 colmenas de cada especie en cada departamento.

Selección de las muestras: preferencial (no aleatoria, se tomarán las que se encuentren).

Unidad muestral: mieles y polen de *T. acapulconis* y de *T. fulviventris*.

Unidad Experimental: cajas de petri.

Tratamientos: 4 distintas concentraciones de miel, blanco negativo (disco blanco), blanco positivo (disco con penicilina).

Diseño Experimental: se empleará un diseño de bloques, debido a que todos los tratamientos están presentes en cada unidad experimental.

Variables de respuesta: mm en radio de halo (numérica, continua); % en cada 100g de muestra (numérica, continua), olor (categórica), sabor (categórica), consistencia (categórica), intensidad de olor y sabor (categórica), persistencia (categórica).

Naturaleza del experimento: transversal.

Encuadre geográfico: Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa, Guatemala; Jutiapa, Guatemala, CA.

Encuadre temporal: las muestras serán colectadas en meses de castración (marzo y abril) de 2008.

Grupo objetivo: meliponicultores y personas de escasos recursos de los sitios muestreados.

Procedimiento

Sitios de muestreo

Se visitaron los siguientes lugares: El Tule, Quezada, Jutiapa; La Brea, Quezada, Jutiapa; Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa; El Cipresal, Pachalum, Quiché; Samalá y el Asintal, Retalhuleu; Mazatenango, Suchitepéquez; La Cuestona, Esquipulas, Chiquimula; y Pajapita, San Marcos.

Toma de muestras de miel y polen

Ubicación de los nidos de las abejas: Ubicación del nido de las abejas: Por el hecho de que estas abejas son subterráneas, primero se localizaron los nidos, con ayuda de los

meliponicultores. Ellos localizan el nido por medio de avistamiento de la piquera (estructura prominente que sirve de entrada y salida del nido). Para la especie *Trigona (Geotrigona) acapulconis*, que se encuentra a varios metros de profundidad del suelo. Los meliponicultores, primero determinan la profundidad del nido introduciendo una ramita por la piquera. Luego se excava cuidadosamente alrededor de donde probablemente se encuentre el nido, se colocan tabloncillos para evitar que se desmorone al momento de extraerlo, se eleva al nivel del suelo y se le quita la tierra que lo cubre. Posteriormente se extraen los potes de miel y luego se devuelve el nido a su lugar. Se coloca una piedra y tierra encima para cubrir de nuevo el nido. Esta tarea dura aproximadamente un día entero, dependiendo de la profundidad del nido. Para el caso de *Trigona fulviventris*, que regularmente se encuentra entre las raíces de algún árbol y el suelo, es un poco más fácil la extracción del nido. Primero, se ubica la piquera, que es más evidente debido a que está ornamentada con heces de vaca. Luego se escarba hasta ubicar el nido, que en este caso, no se desmorona, debido a que se encuentra entre las raíces del árbol. Luego se extrae la miel y se cubre nuevamente el nido con tablas o tierra.

Extracción de la miel: La miel se extrajo luego de la identificación de los potes de miel, o reservorios construidos por las abejas que contengan miel. Se les abrió un agujero en la parte superior por el cual se introdujo la punta de una sonda para suero insertada en la punta de una jeringa con la cual se extrajo la miel. La miel fue colocada en un recipiente plástico de un tamaño adecuado al volumen de miel extraído. Se le asignó un número de colecta y los recipientes que contenían la miel fueron rotulados con ese código asignado. Posteriormente se colocó a 5 °C hasta su análisis. Para cada muestra de miel se llenó una boleta con todos los datos de origen (Ver anexo 2)

Extracción del polen: Se identificaron los potes de polen, que habitualmente se encuentran a un lado de la cámara de cría. Los potes de polen se separaron de la colmena cortándolos cuidadosamente con un escalpelo (esto para evitar al máximo dañar la cámara de cría o alguna otra estructura de la colmena). Una vez los potes se encontraron fuera de la colmena, se colocaron en papel aluminio y luego de bolsas plásticas. Se le asignó un número de colecta y las bolsas que contenían el polen fueron rotuladas con ese código asignado. Posteriormente se colocó la muestras de polen a 5 °C hasta su análisis. Para cada muestra de polen se llenó una boleta con todos los datos de origen (Ver anexo 2)

Encuestas etnoentomológicas

Se realizaron entrevistas semiestructuradas a los meliponicultores con el objetivo de recavar el conocimiento tradicional sobre las abejas de nidos subterráneos. Estas incluían temas como usos de los productos, conocimiento sobre la biología y ecología de las abejas talnete y culo de cucho, etc. (ver anexo 3)

Bioactividad de la miel

Obtención de la cepa de Streptococcus: El cultivo de la cepa pura del estreptococo fue proporcionado por el laboratorio clínico del Hospital Roosevelt. La bacteria utilizada es *Streptococcus pyogenes* cepa ATCC número 19615.

Tratamiento de la cepa de bacteria: Antes de ser utilizada para las pruebas, se estandarizó el número teórico de bacterias por mililitro de solución que las contiene;

para ello, se utilizó el medio de cultivo Mueller-Hinton, para que crecieran, dejándolas incubar 24 horas a 37° C; luego fueron sembradas en agar sangre para que crecieran por 24 horas; se seleccionaron las cepas que presentaron mayor capacidad hemolítica y se extrajeron para igualar el estándar de turbidez de MacFarland a 0.05. Este estándar se utilizó para garantizar una misma concentración de bacterias en todos los medios inoculados. Todo procedimiento microbiológico se realizó dentro de una campana microbiológica de flujo laminar, siguiendo lo estipulado en los manuales de bioseguridad (Torres, 1996).

Medio de cultivo para la prueba: Se utilizaron cajas de petri, con agar sangre, aplicando la técnica de rejilla para la siembra de las bacterias sobre los medios, utilizando un hisopo remojado en la suspensión de bacterias, dejándolas incubar 24 horas en cámara de CO₂, luego de colocados los discos de sensibilidad con los distintos tratamientos (Torres, 1996).

Preparación de los discos de sensibilidad: Para los discos que contenían las diluciones de miel y para los blancos negativos (discos de sensibilidad con agua destilada esterilizada), se utilizaron magazines de discos blancos (discos idénticos a los discos que contiene antibiótico utilizados para las pruebas de sensibilidad en los laboratorios clínicos, salvo que estos no contienen nada); las diluciones de miel fueron de 25% (1 parte de miel: 3 partes de agua), 50% (1 parte de miel: 1 parte de agua), 75% (3 partes de miel: 1 parte de agua) y 100% (la miel pura).

Aplicación de las diluciones de miel a los discos blancos: Inmediatamente después de preparar las diluciones, se aplicaron 20 µl de dilución para saturar a su máxima capacidad los discos de sensibilidad. No se dejó que se secase el disco antes de colocarlo en la caja (ensayo en fresco).

Colocación de los discos sobre el medio: Se colocaron los discos, uno con cada tratamiento [blanco (+), blanco (-), y los cuatro tratamientos de la miel] en una misma caja de petri (bloque), procurando una distribución al azar de los discos en la caja. Se utilizaron un total de 20 cajas (réplicas) por prueba.

Lectura de los halos de inhibición: Se realizó una medición del radio del halo de inhibición, tanto de los blancos como de las mieles, utilizando una escala de Bernier, reportando el dato en mm; esta medición se hizo a las 24 horas de haber sembrado y colocado los discos de sensibilidad.

Determinación de bioactividad específica: Una vez observados y medidos los halos de inhibición, se tomó una muestra con una asa del halo que presentó mayor resistencia (mayor diámetro de halo) para evitar que las colonias que crecen fuera del halo dieran falsos positivos (crecimiento de colonias de bacterias). Se consideró que la bioactividad específica de las mieles era bacteriostática si al momento de resembrarla se observó crecimiento; se consideró bactericida si no hubo crecimiento en la resiembra.

Propiedades nutricionales de la miel y el polen

La humedad se determinó por desecación en horno de convección, a 105°C. La materia seca se calculó por diferencia, luego que se determina la humedad. Las Cenizas se determinaron por combustión en mufla a 450°C. La Proteína se determinó por el método Kjeldhal, que se basa en la cuantificación del Nitrógeno presente en la muestra.

Todo esto fue realizado por el laboratorio de bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y zootécnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Propiedades sensoriales de la miel y el polen

Análisis visual y táctil: Para el análisis visual y táctil se colocaron 50 ml de miel en un recipiente de vidrio transparente; y 5grs. de polen en otro recipiente de vidrio transparente. Para el análisis visual se describió el estado físico de las muestras de miel y polen, la claridad, el color, matiz y otros. Para el análisis táctil de la miel y el polen se describió su consistencia y otras características (Ver anexo 4 a).

Evaluación de olor y aroma (sabor): Se colocaron 5 grs. de miel o pólen en recipientes plásticos de 4 cms de diámetro y 1.5 cms de alto, se etiquetaron y se colocaron a temperatura ambiente. Luego se destapó y mezcló (tres vueltas con cucharita plástica) la miel contenida en el recipiente. Luego se olió la miel inhalando el contenido del recipiente, se anotó la intensidad del olor usando la escala de 0-3 (ver tabla abajo). Después, se olió por segunda vez (aprox. 15 seg. después). Luego se anotó la descripción del olor, utilizando la tabla de atributos (ver anexo 5). Esto se anotó en una boleta (Ver anexo 4 b). Para degustar y evaluar el aroma (o sabor), se tomó media cucharita de miel o polen (aprox. 0.5 g), se frotó la lengua con el paladar de 3-5 veces, se saboreo la mezcla de miel con saliva y se ingirió lentamente. Luego se anotó la intensidad del aroma (sabor) y la intensidad de los sabores utilizando una escala de 0-3 (ver abajo). Luego se anotó la descripción del aroma en una boleta utilizando la tabla de atributos (ver anexo 4 b). Por último para olvidar los sabores de la miel y el pólen se come un pedacito de manzana verde y se bebe agua.

A continuación se describe la escala de intensidad del sabor y el aroma, propuesta por Persano Oddo y Piro (2004).

escala	0	1	2	3
intensidad	ausente	suave	medio	fuerte

Tanto para la intensidad del olor, como la intensidad de los sabores ácido, amargo, astringente, dulce, picante y salado, se utilizará esta escala de 0-3.

La descripción del olor y del aroma se realizó utilizando la modificación de la rueda referida en Piana y col. (2004), con las correspondientes familias, subfamilias y términos indicados en el (Anexo 5).

Análisis estadístico

Se aplicó análisis descriptivo a los datos nutricionales y sensoriales de la miel y el polen de ambas especies estudiadas.

Se realizó un ANDEVA de doble vía para comparar las observaciones en las distintas cajas de petri (bloques) y los radios de los halos de inhibición a las distintas concentraciones (tratamientos) en ambas mieles. Así mismo, se realizó un ANDEVA de doble vía para comparar el comportamiento observado en las dos mieles y los distintos tratamientos que se utilizaron.

A los resultados de los radios de halos de inhibición a las diferentes concentraciones de ambas mieles, se les aplicó una regresión lineal en la que se determinó el índice de correlación (r^2), se obtuvo la ecuación de la regresión y se le aplico un ANDEVA a dicha regresión.

Resultados

Colecta de muestras de miel y pólen

Tabla 1. Muestras de miel colectadas durante las giras de campo.

No.	Código Muestra	Especie	Nombre común	Lugar	cantidad
1	T(G)A (CH) 92	Trigona (Geotrigona) acapulconis	Talnete	El Tule, Quezada, Jutiapa	300 ml
2	TF (CH) 94	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	La Brea, Quezada, Jutiapa	20 ml
3	TF (CH) 94	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa	25 ml
4	TF (Q) 95	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	El Cipresal, Pachalum, Quiché.	125 ml
5	TF (ESC) 96	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	Samalá, Retalhuleu.	50 ml
6	T(G)A (TRI) 97	Trigona (Geotrigona) acapulconis	Talnete	La cuestona, Esquipulas, Chiquimula	760 ml

Tabla 2. Muestras de polen colectadas durante las giras de campo.

No.	Código Muestra	Especie	Nombre común	Lugar	cantidad
1	T(G)A (CH) 92	Trigona (Geotrigona) acapulconis	Talnete	El Tule, Quezada, Jutiapa	½ Libra
2	TF (CH) 94	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	La Brea, Quezada, Jutiapa	1 Libra
3	TF (CH) 94	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa	½ Libra
4	TF (Q) 95	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	El Cipresal, Pachalum, Quiché.	1 Libra
5	TF (ESC) 96	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	Samalá, Retalhuleu.	¼ Libra

Conocimiento Tradicional sobre la miel y el polen

Tabla 3. Usos de los productos de las colmenas de las abejas de nidos subterráneos

No.	Nombre Científico	Nombre común	Usos/ miel	Usos/ cera	Usos/ pólen
1	Trigona (Geotrigona) acaapulconis	Talnete	Para la cura de golpes internos, como alimento, para curar heridas abiertas y para curar la catarata de los ojos.	Para pegar cosas, para tapar graneros.	Para curar heridas (mezclado con la miel)
2	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	No la utilizan.	No la utilizan	No la utilizan

Tabla 4. Producción de miel de las abejas de nidos subterráneos.

No.	Nombre Científico	Nombre común	Cantidad de nidos	Miel/ nido	Precio
1	Trigona (Geotrigona) acaapulconis	Talnete	3-7	1-3 botellas	Q 100
2	Trigona (Trigona) fulviventris	Culo de Chucho	---	¼ botella	No la vende

En la tabla 3 y 4 se puede observar los usos que los campesinos le dan las abejas de nidos subterráneos. Se puede observar que los productos de las colmenas de las abejas *T.(G.) acaapulconis* son más utilizados, en incluso comercializados. Sin embargo, los productos de las colmenas de *T. fulviventris* no son utilizados. Esto se debe principalmente a los hábitos de *T. fulviventris*, que colecta heces de animales para construir su piquera, que es muy evidente a nivel del suelo; de este hábito se originó su nombre “culo de chucho”. Además, durante la presente investigación, al descubrir los nidos de *T. fulviventris* para extraer la miel, pudimos observar la poca cantidad de miel que se puede obtener (250 ml solamente). A lo cual se suma que los potes de miel y polen son muy pequeños (aprox. 1 cm de diámetro) y muy difícil de obtener la miel; y están de forma intercalada con los potes de polen, por lo que muchas veces es difícil obtener la miel pura, ya que se mezcla con el polen. Lo contrario sucede con *T. (G.) acaapulconis* que presenta potes de miel grandes (10cms de largo x 10 cms de diámetro) y digitiformes. Además los potes de polen están separados de los potes de miel, por lo que es fácil obtener la miel pura. Así mismo, se puede obtener, de un solo nido, hasta 3 botellas de miel.

Bioactividad de la miel

Tabla 5. Medición del halo de inhibición de la miel de *Trigona Geotrigona acapulconis* y *Trigona trigona fulviventris* a diferentes concentraciones sobre una cepa ATCC de *S. pyogenes*.

	Tratamientos*				
	25%	50%	75%	100%	Control positivo
Especie	promedio (mm)				
<i>Trigona (Geotrigona) acapulconis</i> n=2	2.38	5.05	7.8	10.7	14.5
<i>Trigona fulviventris</i> n=1	9.4	11.4	12.65	14.8	15.05

El control negativo (agua destilada) no presentó ningún halo de inhibición del crecimiento bacteriano.

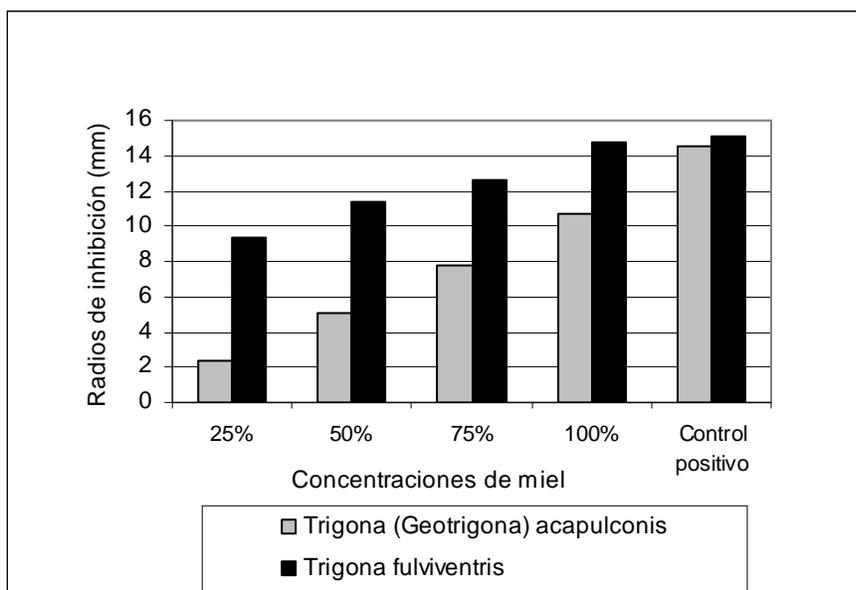


Gráfico 1. Halos de inhibición de la miel de *Trigona Geotrigona acapulconis* y *Trigona trigona fulviventris* a diferentes concentraciones sobre una cepa ATCC de *S. pyogenes*.

Como se observa en la tabla 5 y gráfico 1, la miel de *T. fulviventris* presenta halos de inhibición mucho mayores, en todos los tratamientos, que la miel *T.(G.) acapulconis*. Así mismo, en la mayor concentración de miel utilizada, la miel de *T. fulviventris*, se asemeja más, al halo de inhibición de la penicilina (control positivo), que la miel de *T.(G.) acapulconis*. De tal manera, existe diferencia significativa entre la miel de *T. fulviventris* y la miel de *T.(G.) acapulconis* ($P < 0.05$) en cuanto a los radios de inhibición del crecimiento de la bacteria sobre una cepa ATCC de *S. pyogenes*.

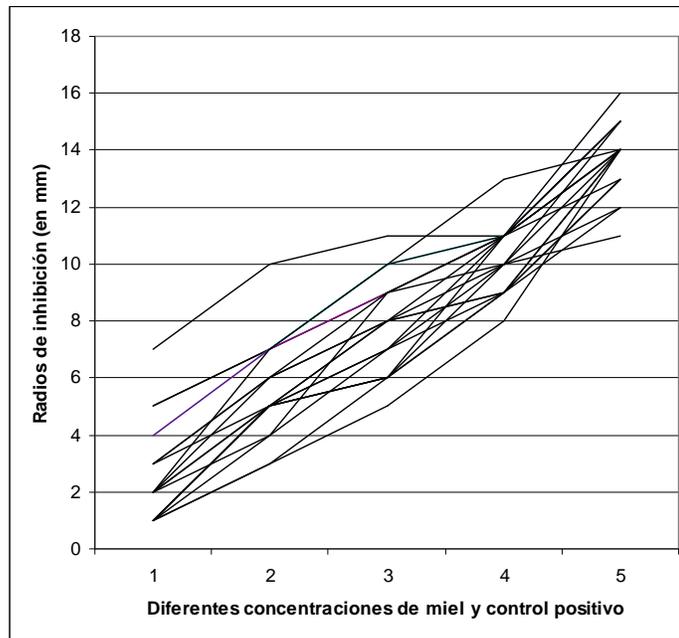


Gráfico 2. Halo de inhibición de las diferentes réplicas de la miel de *Trigona Geotrigona acapulconis* a diferentes concentraciones sobre una cepa ATCC de *S. pyogenes*.

En el gráfico 2 se puede observar un aumento progresivo de los radios de inhibición de del crecimiento bacteriano conforme se incrementa la concentración de miel de *T.(G.) acapulconis* en cada uno de los tratamientos. Por lo que existe una correlación entre los halos de inhibición y el aumento de la concentración de miel de *T.(G.) acapulconis* ($r^2=0.78$; $p<0.05$). Sin embargo, los halos de inhibición son menores que los provocados por el control positivo (penicilina).

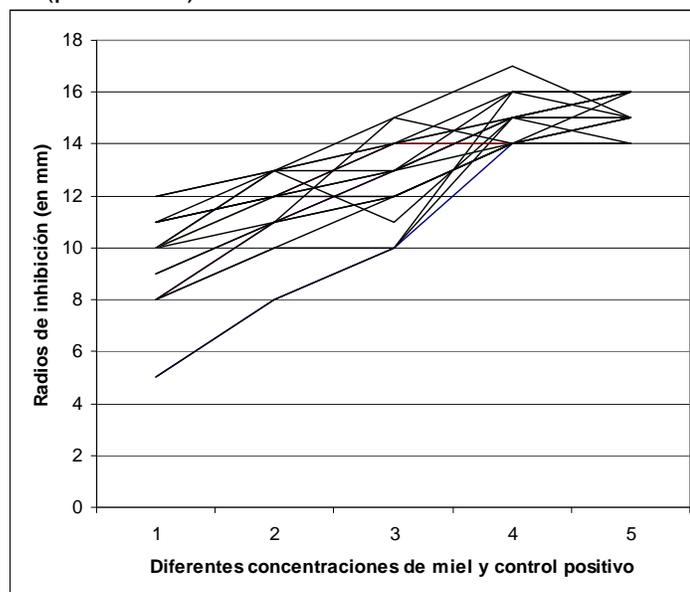


Gráfico 3. Halo de inhibición de las diferentes réplicas de la miel de *Trigona fulviventris* a diferentes concentraciones sobre una cepa ATCC de *S. pyogenes*.

En el gráfico 3 se puede observar un aumento progresivo de los radios de inhibición de del crecimiento bacteriano conforme se incrementa la concentración de miel de *T. fulviventris* en cada uno de los tratamientos. Por lo que existe una correlación entre las dos variables ($r^2=0.63$; $p<0.05$). Pero en este caso, los halos de inhibición son muy parecidos al los provocados por el control positivo (penicilina); e incluso en algunas réplicas, los halos de inhibición son mayores que los de la penicilina.

Tabla 6. Pruebas de inhibición específica para determinar el efecto bactericida o bacteriostático de las mieles de *Trigona Geotrigona acapulconis* y *Trigona trigona fulviventris*.

	25%	50%	75%	100%
	promedio (crecimiento bacteriano)	promedio (crecimiento bacteriano)	promedio (crecimiento bacteriano)	promedio (crecimiento bacteriano)
Trigona (geotrigona) acapulconis n=2	2.2	0.8	0.3	0.2
Trigona fulviventris n=1	1	0.3	0.3	0.3

Nota: la escala se puede explicar de la siguiente manera: 0 no hubo crecimiento; 1 crecimiento muy leve; 2 crecimiento moderado; 3 crecimiento normal.

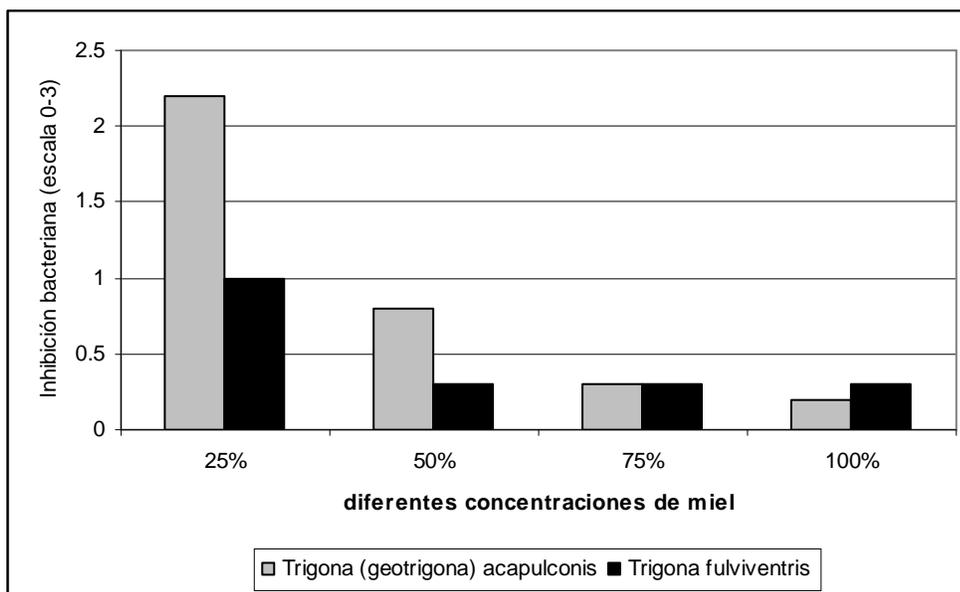


Gráfico 4. Inhibición específica para determinar el efecto bactericida o bacteriostático de las mieles de *Trigona Geotrigona acapulconis* y *Trigona trigona fulviventris*.

Como se puede observar en la tabla 6 y gráfico 4, al realizar la prueba de bioactividad específica, la miel de *T. fulviventris*, a una concentración del 25%, presentó un crecimiento bacteriano muy leve. Mientras que la miel de *T.(G). acapulconis*, a la misma

concentración, presentó un crecimiento entre moderado y normal. Esto quiere decir, que ambas mieles a una concentración del 25%, presentaron actividad bacteriostática. En el resto de concentraciones (50%, 75% y 100%), ambas mieles presentaron crecimientos bacterianos mayores o igual a “0” y menores que “1”. Por lo anterior se presume, que las mieles de ambas abejas evaluadas, a concentraciones iguales o mayores al 50%, presentan actividad bactericida.

Dardón & Enríquez (2008) por medio del método de la concentración mínima inhibitoria (CMI), evaluaron la miel de nueve especies de abejas sin aguijón, donde el 65% de las mismas presentaron un CMI=5% ante todos los microorganismos evaluados. Este es el único trabajo realizado en Guatemala sobre la actividad antibacteriana de la miel de meliponinos. En ese mismo estudio se evaluó la CMI de la miel de *T.(G.) acapulconis*, que presentó una CMI de 5-10% para todos los microorganismos evaluados, excepto para *Candida albicans*. La miel de *T. fulviventris* no se evaluó en dicho estudio y no existen datos sobre su bioactividad en Guatemala.

Propiedades nutricionales

Tabla 7. Propiedades nutricionales de la miel y el polen de *Trigona Geotrigona acapulconis* y *Trigona trigona fulviventris*.

Especie		Muestras (n)	Agua %	M.S.T. %	Proteína Cruda %	Cenizas %	E.B. Mcal /kg
Trigona (Geotrigona) acapulconis	Miel	1	59.7	40.3	0.5	0.14	4,657
	polen	3	45.4	54.6	15.7	2.6	4,880.70
Trigona fulviventris	Miel	0	---	---	---	---	----
	polen	6	34	66	20.8	3.5	5,488.30

M.S.T.: materia seca total; E.B.: Energía Bruta.

Como se observa en la tabla 7, la miel de *T. (G.) acapulconis* presentó un % de humedad de cerca del 60%. Este es un valor muy alto si lo comparamos con otros datos de humedad para las mieles de meliponinos. Por ejemplo, la humedad en la miel de meliponinos de Guatemala, en promedio, se mantiene en % menores al 20%; a excepción de la miel de *T. G. acapulconis* que reporta un poco más del 30% (Enríquez, et al., 2008). Sin embargo, Souza et. al. (2006), en una evaluación de más de 152 mieles de meliponinos, reporta que lo más común de encontrar en cuanto a humedad está en el rango de 19.9-41.9 %. Este alto % de agua encontrado en la miel de *T. G. acapulconis* favorece la fermentación en la miel y podría explicar el sabor ácido en ella.

En cuanto al porcentaje de proteína contenida en la miel de *T. (G.) acapulconis*, no existen reportes previos para Guatemala. Sin embargo, es similar al % de proteína en la miel presentada por *Scaptotrigona pectoralis* (0.41%) y *Scaptotrigona mexicana* (0.47%); pero muy diferente al % presentado por *Melipona beecheii* (0.073%) y *Tetragonisca angustula* (1.19%) (Enríquez et al., 2008). Esto es debido principalmente a la cantidad y calidad del recurso floral que las abejas colectan durante el pecoreo.

En cuanto a las propiedades nutricionales del polen de meliponinos de Guatemala, no se han reportado datos hasta la fecha para ninguna especie. Se puede observar que el porcentaje de agua en el polen de las dos especies estudiadas varía de 34-45.4%. El porcentaje de agua en el polen de *Apis mellifera* es de 10-20% (Apiterapia, 2001). Conteniendo mayor % de agua el polen de *T.(G.) acapulconis* (45.4%). El % de proteína para ambas especies varía de 15.7-20.8%. El % de proteína en el polen de *Apis mellifera* varía de 20-25%; y es más rico en proteínas que la mayor parte de los

alimentos tales como: carne, huevos, pescado, queso, etc. (Apiterapia, 2001). Las cenizas para ambas especies varía de 2.6-3.5%. Las cenizas en *Apis mellifera* varían de 2.4-6.4% y la componen el potasio, sodio, calcio, fosforo, azufre; y minerales en pequeñas cantidades (aluminio, boro, cloro, yodo, hierro, manganeso, níquel, sílice, axufre, titanio y zinc (Pérez, 1983). Conteniendo mayor % de proteína y cenizas el polen de *T. fulviventris* (20.8% y 3.5% respectivamente).

Según Salamanca et al. (2008) la porción proteica del polen le confiere un alto valor biológico, el contenido de minerales y la reducida fracción de grasa lo convierte en un alimento funcional si se tiene en cuenta el aporte de vitaminas y fibra.

Análisis sensorial de la miel y el polen

Tabla 8. Análisis visual y táctil de la miel y el polen de *Trigona (Geotrigona) acapulconis* y *Trigona fulviventris*

	Especie	Evaluación visual					Evaluación táctil	
		Estado físico	claridad	color	matiz	otros	consistencia	características
Miel	<i>Trigona Geotrigona Acapulconis</i> n=2	Líquido	Turbio	ambar oscuro o ambar luminoso	opaco, negro quemado	impurezas	fluida	delicada, suave o lubricada
	<i>Trigona Geotrigona Acapulconis</i> n=1	Sólido	NA	amarillo	NA	luminoso, seco	arenoso, polvo fino	partículas grandes, como arena; suave como talco
Polen	<i>Trigona Fulviventris</i> n=4	Sólido	NA	ocre, café, café oscuro, verde amarillento	NA	opaco, seco	polvo fino, pastoso, pegajoso	suave como talco o pastoso como plasticina, con poca arenosidad

NA= No aplica

Como se observa en la tabla 8, de forma general, la miel de *T. (G.) acapulconis* presenta coloraciones claras, poco opaca y es una miel muy fluida y poco viscosa. También en la tabla 8 se puede observar lo similar en cuanto al aspecto visual y táctil del polen de ambas especies, con coloraciones amarillentas o café, y con consistencia como polvo o arenosa.

Tabla 9. Intensidad de cada sabor u aroma en la miel y el polen de *Trigona (Geotrigona) acapulconis* y *Trigona fulviventris* talnete y culo de chucho.

	Trigona (Geotrigona) acapulconis		Trigona fulviventris
	miel (n=2)	polen (n=1)	polen (n=4)
Ácido	1.75	1.5	0.88
Amargo	1.75	1.5	0.88
Astringente	1.75	1.5	0.88
Dulce	1.75	1.5	0.88
Picante	1.75	1.5	0.88
Salado	1.75	1.5	0.88

	Trigona (Geotrigona) acapulconis		Trigona fulviventris
	Intensidad del aroma	1.75	1.5
intensidad del olor	1.75	1.5	0.88
Relación intensidad olor/aroma	olor<aroma	olor=aroma	olor<aroma

Como se observa en la tabla 9, la miel de *T. (G.) acapulconis* presentó mayores intensidades en los diferentes sabores evaluados, el aroma y el olor (1.7). Esto si lo comparamos con el polen de la misma especie y con el polen de *T. fulviventris*. Esto muy probablemente se deba al alto % de agua presente en la miel, lo que favorece su fermentación. Al comparar las intensidades en los diferentes sabores evaluados, el aroma y el olor del polen, de las dos especies de nidos subterráneos, observamos que el polen de *T. (G.) acapulconis* presenta valores más altos (1.5), que el polen de *T. fulviventris* (0.88). Estas diferencias probablemente se deban a las diferencias biológicas de cada especie, en cuanto a la cantidad y calidad del polen que colectan y a las enzimas añadidas al polen por cada una de ellas.

Tabla 10. Atributos de la miel de *Trigona (Geotrigona) acapulconis*

Especie		Familias	Subfamilias	Descriptorios
Trigona (Geotrigona) acapulconis (n=2)	olor	Deteriorado, Madera, Refrescante, Frutal.	acre, resinoso, floral, fruta cítrica, fruta fresca.	vinagre, resina de pino, rosas, limón, ocote, manzanilla.
	aroma	Frutal, Deteriorado, Madera, Químicos industriales.	fruta cítrica, resinoso, medicinal.	limón, vinagre, resina de pino, dulces ácidos
	otras percepciones	astringente, picante,		

Tabla 11. Atributos del polen de *Trigona (Geotrigona) acapulconis* y *Trigona fulviventris*

Especie		Familias	Subfamilias	Descriptorios
Trigona (Geotrigona) acapulconis (n=1)	olor	Vegetal, Deteriorado,	seco, mohoso,	té verde, paja, polen, humedad,
	aroma	Vegetal, Deteriorado.	resinoso, seco, mohoso.	resina de pino, polen, humedad,
	otras percepciones	amargo y arenoso		

Especie		Familias	Subfamilias	Descriptor
Trigona fulviventris (n=4)	olor	Vegetal, deteriorado, frutal, caliente.	seco, fresco, resinoso, mohoso, fruta cítrica, fruta fresca, quemado.	polen, humedad, paja, hongos, resina de pino, heno, limón, nance, panela,
	aroma	Madera, vegetal, Frutal, caliente, deteriorado.	Resinoso, seco, fruta cítrica, quemado, acre, mohoso.	resina de pino, polen, limón, panela, vinagre, humedad
	otras percepciones	arenoso, amargo, astringente, granuloso		

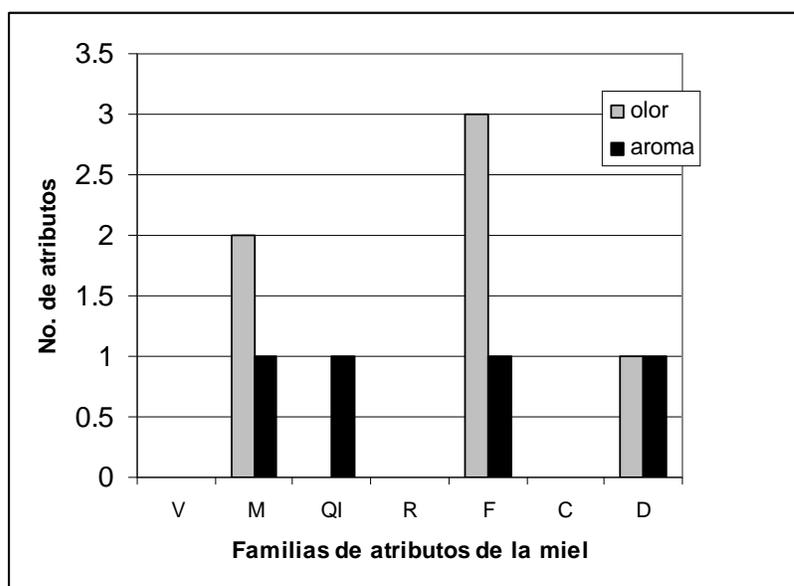


Gráfico 5. Atributos por familia de olor y aroma de la miel de *Trigona (Geotrigona) acapulconis*

En la tabla 10 y gráfico 5, se puede observar que la miel de *T. (G.) acapulconis* presenta un total de 6 atributos en olor y 4 atributos en aroma; pertenecientes a 4 familias de atributos. A diferencia de 1 atributo de olor y dos atributos de aroma, propuestos por Enríquez & Maldonado (2008), para la descripción de una muestra de miel de la misma especie. Se puede observar que las familias dominantes (con más atributos) son Madera y frutal. Esto es debido a la presencia del atributo resina de pino y a los atributos limón y otras frutas. El atributo resina de pino muy probablemente se deba al propóleo que conforma los potes donde se encuentra almacenada la miel y que le transfiere algunos compuestos. El atributo limón se debe al fuerte olor y sabor ácido de la miel, producto de la fermentación, que incluso provoca irritación en la garganta al tragar la miel. La miel de talnete, es una miel muy apreciada por los guatemaltecos, que le atribuyen propiedades medicinales, muchas veces asociada con el fuerte sabor ácido, producto de la fermentación por el alto % de agua. P. Vit et al. (2007) comenta que no se puede decir que el atributo fermentado sea un defecto en la miel, sino más bien, una característica de las mieles de meliponinos, tan agradable o desagradable

como el queso Roquefort para diferentes catadores. Por lo que Vit et al. (2007) propone hacer algunas modificaciones a la lista de atributos propuesta por Piana et al. (2004). Entre estas modificaciones está crear una familia de atributos que se llame “fermentado” y quitar la familia “deteriorado”.

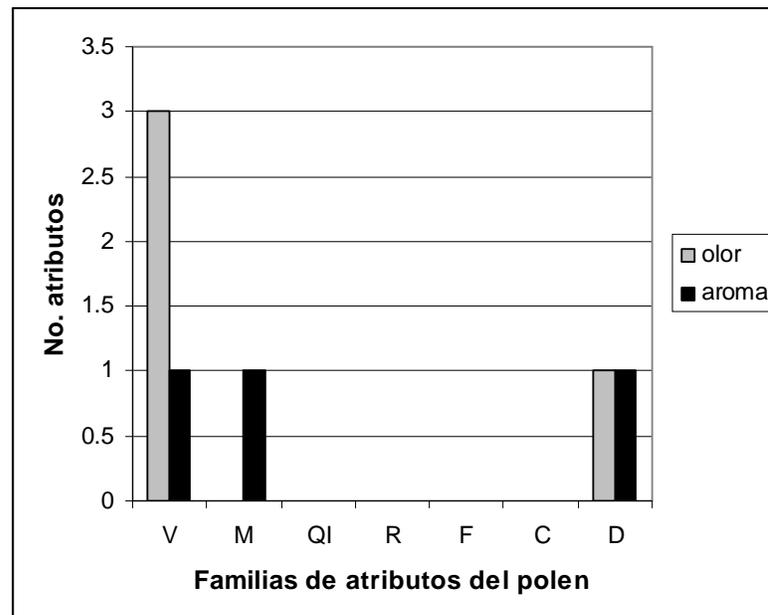


Gráfico 6. Atributos por familia de olor y aroma del polen de *Trigona (Geotrigona) acapulconis*

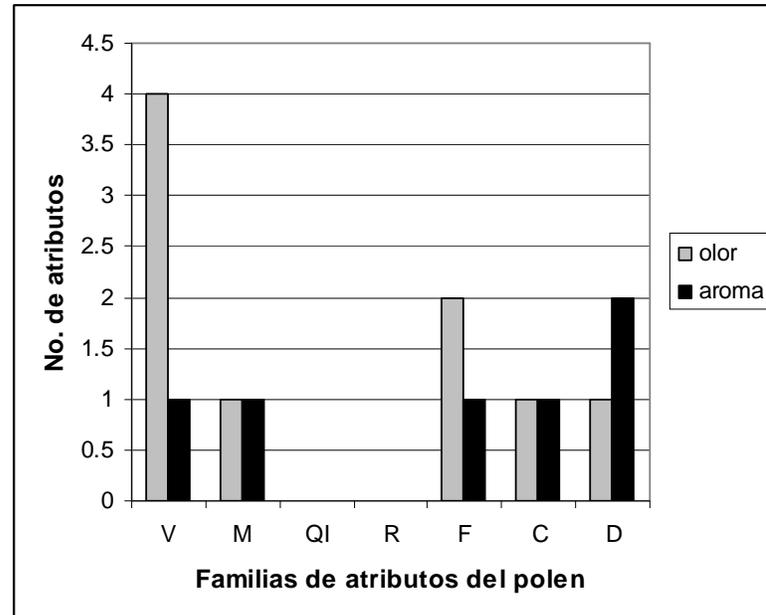


Gráfico 7. Atributos por familia de olor y aroma del polen de *Trigona fulviventris*

En la tabla 11 y gráficos 6 y 7; se observan los atributos del polen de las dos especies de nidos subterráneos. En el polen de *T. (G.) acapulconis* observamos que presenta 4 atributos de olor y 3 atributos de aroma, distribuidos en 3 familias. Así mismo, el polen de *Trigona fulviventris* presenta 9 atributos de olor y 6 atributos de aroma, distribuidos en 5 familias. Por lo que se presume que el polen es mucho más complejo

sensorialmente que la miel de estas especies de nidos subterráneos. En el polen de las dos especies evaluadas se observa la presencia de tres familias: vegetal, madera y deteriorado. Dentro de la familia “vegetal” se identificaron atributos como “humedad”, “paja”, entre otros; dentro de la familia “madera” se identificaron atributos como “resina de pino”, lo que muy probablemente se deba al propoleo que conforma el cerumen de los potes que contienen el polen; dentro de la familia “deteriorado” se identifica como atributo “fermentado”, que se considera un defecto en la miel y el polen de *Apis mellifera*, pero que no lo es para la miel y el polen de meliponinos. Así mismo, el polen de *Trigona fulviventris* tiene más atributos que el polen de *T. (G.) acapulconis*. Esto muy probablemente se deba a las diferencias en los hábitos de colecta de polen de cada una de las especies de abejas de nidos subterráneos; o posiblemente al proceso de fermentación del polen debido a las enzimas propias de cada especie.

Según Salamanca et al. (2008) el aspecto y propiedades sensoriales de aroma, color, textura y tamaño del polen de la abeja melífera está en función de su origen botánico. Así, las tonalidades van desde el verde al naranja y desde el amarillo al marrón, en algunos casos se puede observar pólenes violáceos o café oscuro. En cuanto al sabor algunos pólenes son dulces o ligeramente amargos con tonos astringentes.

Discusión

Existen algunos trabajos en Guatemala que demuestran la bioactividad de la miel de meliponinos contra diferentes bacterias patógenas que afectan a la sociedad guatemalteca (Enríquez & Maldonado, 2008; Dardón et al., 2005; Dardón & Enríquez, 2008). Lo que ha validado el conocimiento tradicional sobre la utilización de la miel de meliponinos para la cura de distintas enfermedades. Esto brinda una gran oportunidad para que la meliponicultura sea una alternativa económica amigable con el ambiente. Así mismo, la presente investigación arroja resultados interesantes sobre la actividad antibacteriana de la miel de las abejas de nidos subterráneos; y sobre su actividad bactericida y bacteriostática. Las mieles de abejas de nidos subterráneos a una concentración del 25% presentan actividad bacteriostática y a concentraciones por arriba del 50% presentan una actividad bactericida. Así mismo, la miel de *Trigona fulviventris* presentó mayor actividad antibacteriana que la miel de *T.(G.) acapulconis*. Estos resultados son muy importantes, ya que la miel de *T. fulviventris* no es utilizada por los campesinos de Guatemala, debido a los hábitos de colecta de heces para la elaboración de la piquera. Es importante que este tipo de información científica sea trasladada a las comunidades para que no se sub-utilicen los recursos que disponen.

Con relación a las propiedades nutricionales de la miel de las abejas de nidos subterráneos, solamente fue posible evaluar la miel de *T. (G.) acapulconis*, ya que los nidos de *T. fulviventris* presentaron muy poca cantidad de miel. En estudios previos (Enríquez & Maldonado, 2008) se reportaron algunos parámetros fisicoquímicos de la miel de *T. (G.) acapulconis* reportando una humedad del 30%. Sin embargo, en este estudio se reportan un % de humedad casi del 60%. Lo que nos indica la variabilidad de la miel con relación al sitio de origen.

Las propiedades nutricionales del polen de las abejas de nidos subterráneos se presentan por primera vez en el presente estudio, siendo similares a los parámetros nutricionales del polen de la abeja melífera. Es muy importante caracterizar el polen de las diferentes especies de meliponinos, ya que como dice Salamanca et al. (2008), la demanda de polen como suplemento alimentario nutricional ha permitido la generación de una cadena de comercialización que viene ganando mercados locales, regionales o internacionales, que demandan estudios de calidad y estabilidad por parte de los consumidores. Así mismo, los meliponicultores pueden aprovechar el polen, como otro

recurso de las colmenas de meliponinos, para incrementar sus ganancias. *T. fulviventris* es una abeja que produce muy poca miel, sin embargo produce grandes cantidades de polen, por lo que puede aprovecharse en este sentido. Por el contrario *T. (G.) acapulconis* produce mayores cantidades de miel y moderadas cantidades de polen. Según Salamanca et al. (2008) la porción proteica del polen de abejas le confiere un alto valor biológico, el contenido de minerales y la reducida fracción de grasa lo convierte en un alimento funcional si se tiene en cuenta el aporte de vitaminas y fibra. Sin embargo, en Guatemala, muchos de los meliponicultores desechan el polen porque desconocen sus beneficios.

Por ultimo, se caracterizó sensorialmente la miel y el polen de las abejas de nidos subterráneos. Este tipo de caracterización es de suma importancia ya que se sabe que las características organolépticas varían según el origen de la miel y el polen. La miel y el polen de *T.(G.) acapulconis* presentan más atributos que la miel y el polen de *T. fulviventris*. Donde predomina el atributo fermentado, que para la miel de la abeja melífera es un atributo no deseado. Sin embargo, las mieles de meliponinos, por su alta concentración de agua tienden a la fermentación. Por lo que para los meliponinos, no es un defecto, sino una característica. Es más, en el conocimiento tradicional, las propiedades medicinales de la miel de los meliponinos se le atribuye a su “fuerza” o fermentación.

Conclusiones

1. La miel de *T. fulviventris* presenta halos de inhibición mucho mayores, en todos los tratamientos, que la miel *T.(G.) acapulconis*. En la mayor concentración de miel utilizada, la miel de *T. fulviventris*, se asemeja más, al halo de inhibición de la penicilina (control positivo), que la miel de *T.(G.) acapulconis*. Existe una correlación entre el aumento de la concentración de miel de *T.(G.) acapulconis* y *T. fulviventris* y el incremento de los halos de inhibición.
2. La miel de *T. fulviventris* y *T. (G.) acapulconis* a una concentración del 25%, presentaron actividad bacteriostática. En el resto de concentraciones (50%, 75% y 100%), ambas mieles presentaron actividad bactericida.
3. La miel de *T. (G.) acapulconis* presentó un % de humedad bastante alto (cerca del 60%) si lo comparamos con otros meliponinos, lo que favorece la fermentación en la miel y podría explicar el sabor ácido en ella.
4. El porcentaje de proteína contenida en la miel de *T. (G.) acapulconis* es similar al presentado por *Scaptotrigona pectoralis* y *Scaptotrigona mexicana*; pero muy diferente al presentado por *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula*. Lo que se debe a la cantidad y calidad del recurso floral que las abejas colectan durante el pecoreo.
5. El porcentaje de agua en el polen de las dos especies estudiadas varía de 34-45.4%, el % de proteína varía de 15.7-20.8%, las cenizas varía de 2.6-3.5%; con mayor % de proteína y cenizas, el polen de *T. fulviventris*.
6. La miel de *T. (G.) acapulconis* presenta coloraciones claras, poco opaca y es una miel muy fluida y poco viscosa; presentó valores altos en las intensidades del aroma y olor, comparado con el polen de ambas especies evaluadas, lo que se

debe al alto % de agua presente en la miel, lo que favorece su fermentación.

7. En cuanto al aspecto visual y táctil del polen de ambas especies, son muy similares, con coloraciones amarillentas o café, y con consistencia como polvo o arenosa. El polen de *T. (G). acapulconis* presenta valores más altos de las intensidades de olor y aroma, que el polen de *T. fulviventris*; lo que se deba a las diferencias biológicas de cada especie, en cuanto a la cantidad y calidad del polen que colectan y a las enzimas añadidas al polen por cada una de ellas.
8. La miel de *T. (G). acapulconis* presenta un total de 6 atributos en olor y 4 atributos en aroma; pertenecientes a 4 familias de atributos.
9. El polen de *T. (G). acapulconis* presenta 4 atributos de olor y 3 atributos de aroma, distribuidos en 3 familias. El polen de *Trigona fulviventris* presenta 9 atributos de olor y 6 atributos de aroma, distribuidos en 5 familias. Ambas especies presentan tres familias: vegetal, madera y deteriorado.
10. El polen de *Trigona fulviventris* tiene más atributos que el polen de *T. (G.) acapulconis*; debido a las diferencias en los hábitos de colecta de polen de cada una de las especies de abejas de nidos subterráneos; o posiblemente al proceso de fermentación del polen debido a las enzimas propias de cada especie.

Recomendaciones

1. Es necesario aumentar la cantidad de miel aplicada en cada una de las diferentes concentraciones de miel y de esta manera obtener halos de inhibición mejor delimitados.
2. Se recomienda evaluar la actividad antibacteriana y la inhibición específica con otras mieles de meliponinos y contra otras bacterias que afecten la salud humana.
3. Se recomienda evaluar qué aminoácidos, enzimas, vitaminas, minerales, flavonoides y otros compuestos específicos se encuentran en la miel y el polen de meliponinos.
4. Es necesario evaluar las propiedades organolépticas del polen de diferentes regiones de Guatemala y de diferentes especies de meliponinos.
5. Es necesario evaluar la actividad antibacteriana, nutricional y sensorial de otros productos de la colmena de meliponinos (propóleo y cerumen).
6. Se necesita trasladar este conocimiento científico a los campesinos meliponicultores para que puedan aprovechar de mejor manera los productos de la colmena de los meliponinos.

Bibliografía

1. Alves, R.M.; de Carvalho, C. A.; de Almeida, B. Arquetetura doninho e aspetos bioecológicos de *Trigona fulviventris fulviventris* Guerin, 1853 (Hymenoptera: Apidae). *Magistra*, Cruz das Almas-BA, V. 15, n. especial entomologia, jan/jun, 2003.
2. Anupama D, Bhat KK, Sapna VK. 2003. Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Research International* 36:183-191.

3. Ayala, R. 1999. Revisión de las abejas sin aguijón de México (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Folia entomologica*. 106:1-123(1999).
4. Borror, D.J., et al. 1992. An introduction to the study of insects. Harcourt Brace College. USA. 875+xiv p.
5. Cabrera, L. et al. S.F. Antibacterial activity of honey during dry and wet season of bee centers located in Zulia State, Venezuela.
6. CONAP. 2004. Biotecnología y Biodiversidad. Consideraciones para elaborar el Marco de Bioseguridad. Folleto técnico. Guatemala, 2004.
7. Cortopassi-Laurino, M., D.S. Gelli. 1991. Analyse polinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africannisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil. *Apidologie* (1991) 22, 61-73.
8. Dardón, M.J. ; Yurrita, C.L. ; Enríquez, M.E.. 2005. Análisis fisicoquímico y antibacteriano de miel de *Melipona beecheii* de Guatemala. Memorias del IV congreso mesoamericano de abejas sin aguijón. Salvador.
9. Dardón, MJ. & E. Enríquez. 2008. Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. *Interciencia*. Vol. 33: No. 12. 916-922 pp.
10. Demera, J., E. Angert. 2004. Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica. Memorias del III Seminario Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. México.
11. Enríquez, E; Monroy, C; Solis, A. 2001. Importancia de las abejas sin aguijón y el estado actual de la meliponicultura para los pobladores de Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa, Guatemala. Memorias del II seminario Mexicano de abejas sin aguijón, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
12. Enríquez, E; Yurrita, C.L.; Ayala, R.; Monroy, C.; Marroquín, A. 2003. listado preliminar de abejas sin aguijón de Guatemala. Memorias de III Seminario Mesoamericano sobre Abejas Sin Aguijón. Tapachula, Chiapas, México, noviembre, 2003.
13. Enríquez, E.; Yurrita, C.; Aldana, C.; Ochenta, J.; Jáuregui, R.; Cahu, P. 2005. Conocimiento tradicional acerca de la biología y manejo de las abejas nativas sin aguijón en Chiquimula, Guatemala. *Revista Agricultura*, marzo, 2005, año viii, edición No. 69.
14. Enríquez, E. & C. Maldonado. 2008. Miel de abejas nativas de Guatemala. Dirección General de Investigación y Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. 26 pp.

15. Galán-Soldevilla H, Ruíz-Pérez-Cacho MP, Serrano Jiménez S, Jodral Villarejo M, Bentabol Manzanares A. 2005. Development of a preliminary sensory lexicon for floral honey. *Food Quality and Preference* 16:71-77.
16. Grajales-C, J. et al. 2001. Características físicas, químicas y efecto microbiológico de mieles de meliponinos y *A. mellifera* de la región de Soconusco, Chiapas. Memorias del II Seminario Mexicano sobre abejas sin aguijón. Universidad Autónoma de Yucatán. México.
17. Guzmán, M.A. , et al. 2003. Biología, manejo y conservación de las abejas nativas sin aguijón. ECOSUR. México.
18. Martins, S.C.S., et al. 1997. Atividade antibacteriana em méis de abelhas africanizadas (*A. mellifera*) y nativas (*Melipona scutellaris*, *Melipona subnitida* y *Scaptotrigona bipunctata*), del Estado de Ceará. *Higiene alimentar* (1997) 11, No. 52, 50-53.
19. McCarthy, J. 1995. The antibacterial effects of honey: medical fact or fiction? *American Bee Journal*.
20. Molan, P.C. 2001. Why honey is effective as a medicine. *Bee world*. 82(1): 22-40 (2001).
21. Molan, P.C. S.F. The antibacterial activity of Money. 2. Vaiation in the potency of the antibacterial activity.
22. Nicoletti, G., Nicolosi, V.M. 1990. Diccionario de bacteriología humana. Centro de documentación científica Menarini. España. 295 p.
23. Nogueira-Neto, P. 1997. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. Nogueirapis. Brasil. 446 p.
24. Persano Oddo L, Piro R. 2004. Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* 35:S38-S81.
25. Piana ML, Persano Oddo L, Bentabol A, Bruneau E, Bogdanov S, Guyot Declerck C. 2004. Sensory analysis applied to honey. *Apidologie* 35:S26-S37.
26. Prandin, L. 2000. Características microbiológicas y propiedades antibacterianas de la miel. Curso "Calidad de la colmena para la apiterapia y VII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas". Venezuela.
27. Root, A. I. ABC y XYZ de la apicultura. Hemisferio Sur. 9ª reimpresión. Argentina. 723 p.
28. Salamanca G., C. Pérez & E. Vargas. 2008. Origen botánico, propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del polen colectado en algunas zonas avícolas de la campiña de Boyacá. II Congreso Iberoamericano sobre seguridad alimentaria y V congreso español de Ingeniería de Alimentos. Barcelona. 1-7 pp.
29. Souza B., Roubik D., Barth O., Heard T., Enríquez E., Carvalho C., Villas-Boas

- J., Marchini L., Locatelli J., Persano-Oddo L., Almedia-Muradian L., Bogdanov S. & Vit P. 2006. Composition of stingless bee Honey: setting quality standards. *Interciencia*. Vol 31. No. 12. 867-875 pp.
30. Torres, M.F. 1996. Manual práctico de Bacteriología médica. Serviprensa C.A. Guatemala. 229 p.
31. Villota, P. 1999. Las abejas y la miel. Acento Editorial. España. 101 p.
32. Vit, P. et al. 1994. Antibacterial activity and mineral content of Venezuelan stingless bee honey. Proceedings of the Fifth Conference on Apiculture in Tropical Climates.
33. Vit, P. 1998. Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie* (1998) 29, 377-389.
34. Vit, P. 2002. Putative anticataract properties of stingless bee (*Meliponinae*) honey. Original article. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
35. Vit, P. 2005. Quality Standards for medicinal uses of *Meliponinae* honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. Original article. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de las actividades de campo



Figura 1. Potes de miel y polen de *Trigona (Geotrigona) acapulconis*, Talnete.



Figura 2. Miel de *Trigona (Geotrigona) acapulconis*, Talnete.



Figura 3. Piquera de *Trigona fulviventris*, culo de chucho.



Figura 4. Nido de de *Trigona fulviventris*, culo de chucho.

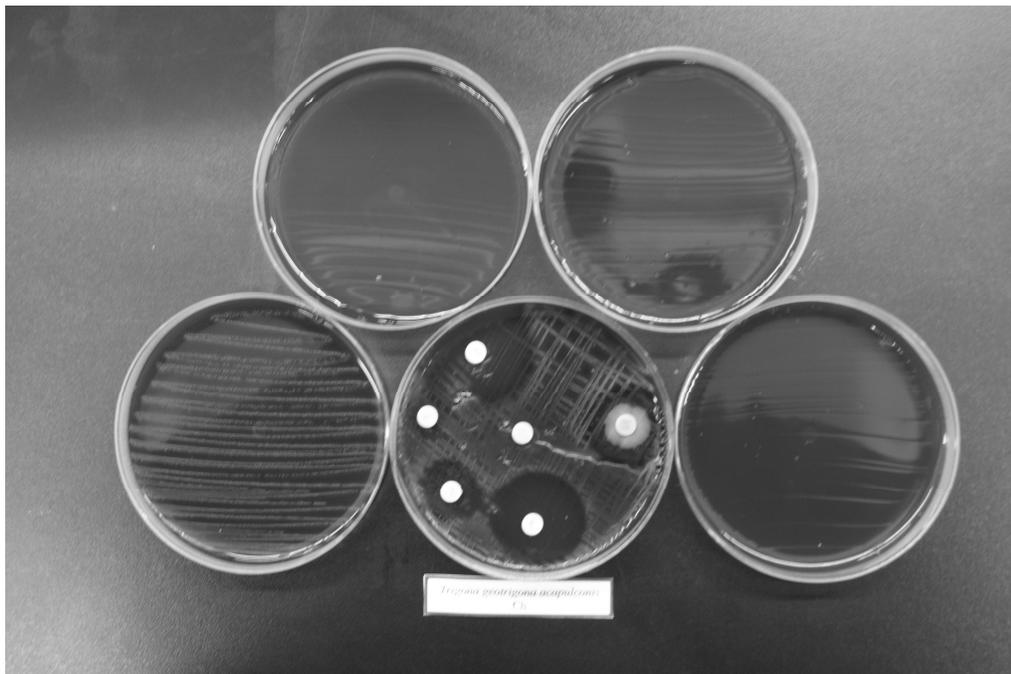


Figura 5. Bioactividad específica de *T. (G.) acapulconis*, talnete.

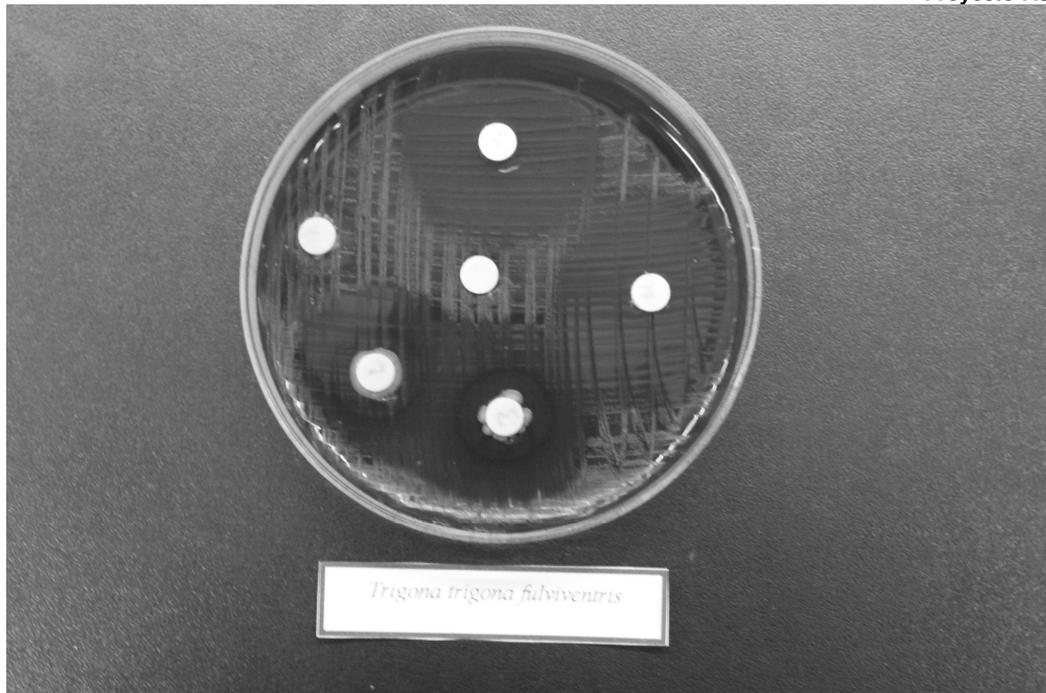


Figura 6. Halos de inhibición de *T. fulviventris*, culo de chucho



Figura 7. Bioactividad específica de *T. fulviventris*, culo de chucho

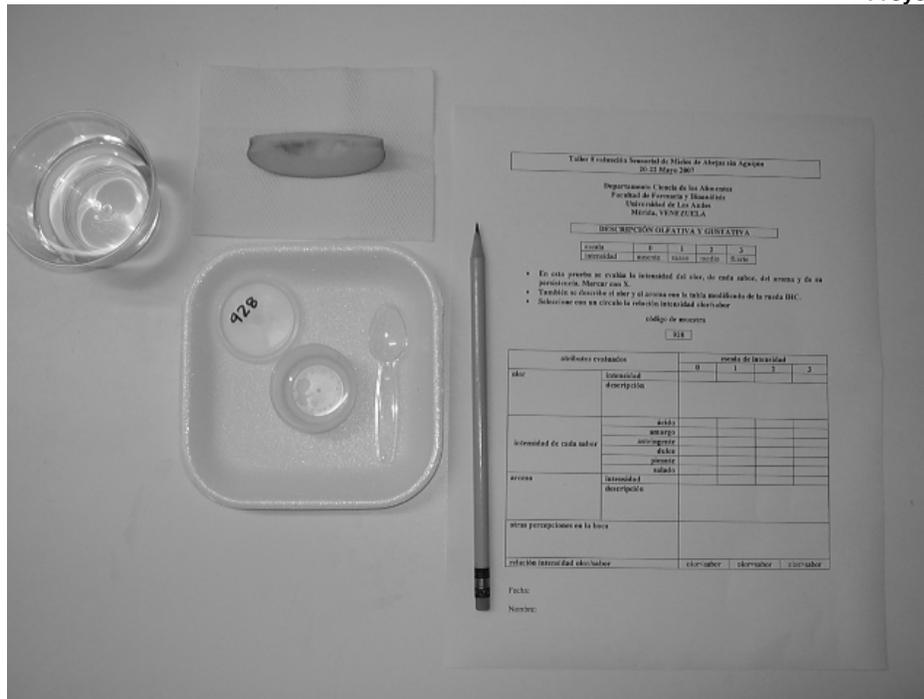


Figura 8. Análisis sensorial de la miel de talnete y culo de chucho.

Anexo 2. Boleta para la colecta de miel y polen

BOLETA PARA LA COLECTA DE MIEL Y POLEN

Nombre del meliponicultor: _____

Lugar de colecta (aldea, municipio y Depto.): _____ Altitud: _____

Coordenadas: _____

Especie de abeja: _____ Nombre común: _____

Código de colecta: _____

Volumen de miel colectado: _____

Masa de polen colectado: _____

Anexo 3. Encuesta etnoentomológica

CONOCIMIENTO TRADICIONAL SOBRE ABEJAS NATIVAS DE NIDOS SUBTERRANEOS

No. Encuesta: _____

Encuestador: _____

Localidad (aldea, municipio y departamento): _____

Fecha: _____

Nombre del Meliponicultor: _____

Edad del meliponicultor: _____

Teléfono y/o correo e: _____

1.- Qué especies de nido subterráneo conoce que viven en la región:

Nombre común	Características del nido	Características de la abeja

2.- Que productos utiliza de los nidos de las abejas de nidos subterráneos?

- a) Miel
- b) Polen
- c) Propoleo
- d) Cera
- e) Otro _____

3.- Cuales son los usos que le da a los productos de la colmena de abejas de nidos subterráneo?

Productos de la colmena	Usos de abeja (NC) _____	Usos de abeja (NC) _____
Miel		
Polen		
Propóleo		
Cera		
Otro		

4.- Conoce alguna receta que utilice los productos de la colmena de las abejas de nidos subterráneos?

5.- Cuanta miel colecta de cada una de las especies de nidos subterráneos?

- a) 1/8 de botella
- a) ½ botella
- b) 1 botella
- d) 2 botellas
- c) Otro _____

6.- En que fecha colecta la miel?

7.- Vende la miel de las abejas de nidos subterráneos?

- a) Si
- b) No

8.- Cuanto vende la miel de las abejas de nidos subterráneos?

- a) 10-50
- b) 51-100
- c) 101-150
- d) 151-200
- e) más de 200

9.- Luego de coleccionar la miel como la almacena?

10.- Sabe si las abejas de nidos subterráneos tienen plagas? Cuáles son?

11.- Como colecciona la miel de cada una de las especies de nidos subterráneos?

12.- Cuántos nidos pudieran existir en el área que usted acostumbra buscar?

- a) 1-5
- b) 6-10
- c) 11- 15
- d) más de 15

Anexo 4. Boletas para análisis sensorial de la miel y el pólen

a) Evaluación visual y táctil

No. Muestra	Código	abeja sin aguijón	evaluación visual					evaluación táctil	
			estado físico	claridad	color	matiz	otros	consistencia	características
1									
2									

b) Evaluación sensorial de olor y aroma (sabor)

No. Muestra: _____ Código: _____ Especie: _____

Atributos evaluados		Escala de intensidad			
		0	1	2	3
olor	intensidad				
	descripción				

	ácido				
	amargo				
	astringente				
	dulce				
	picante				
intensidad de cada sabor	salado				
aroma (sabor)	intensidad				
	descripción				
otras percepciones en la boca					
relación intensidad olor/aroma		olor<aroma; olor=aroma; olor >aroma			

Anexo 5. Tabla de olor y aroma de miel modificada de rueda.

ATRIBUTOS				
Familia	Subfamilia	Términos		
Vegetal	Fresco	Frijoles crudos		
		Hojas frescas		
		Vegetación		
		Después de la lluvia		
	Seco	Malteado		
		Paja		
		Té		
		Heno seco		
		Madera	Seco	Láminas de madera
				Polvo
Nueces				
Avellanas				
Resinoso	Cedro			
	Resina de pino			
	Propóleos			
Especias	Clavo de olor			
	Nuez moscada			
	Café			
	Canela			
Químicos industriales	Petroquímicos	Estireno		
		Pintura		
		Solvente		
	Medicinales	Jabón		
		Vitamina B1		
Refrescante	Aromático	Menta		
		Eucalipto		
		Anís		
		Laurel		
	Floral	Azahar		
		Violetas		
		Rosas		
		Jacinto		
		Frutal	Fruta cítrica	Limón
				Naranja

A T R I B U T O S		
Familia	Subfamilia	Términos
	Fruta fresca	Toronja
		Pera
		Manzana
		Frutas rojas
		Arándano
		Coco
		Melocotón
		Frutas exóticas
	Fruta procesada	Dátiles secos
		Ciruelas pasas
		Higos secos
		Uvas pasas
		Frutas confitadas
		Frutas en almíbar
		Caliente
Azúcar quemado		
Caramelizado	Toffee	
	Caramelo	
	Azúcar morena	
Repostería	Mantequilla fresca	
	Vainilla	
	Cera de abejas	
	Pasta de almendras	
	Pudín	
Deteriorado	Acre	Queso picante
		Vinagre
	Animal	Queso
		Sudor
		Establo
		Orina de gato
	Mohoso	Humedad
		Coletó
		Humus
		Congestionado
	Azufrado	Alcachofa
		Repollo

Modificada de: Piana y col. (2004)

Anexo 1. Fotografías de las actividades de campo



Figura 1. Potes de miel y polen de *Trigona (Geotrigona) acapulconis*, Talnete.



Figura 2. Miel de *Trigona (Geotrigona) acapulconis*, Talnete.



Figura 3. Piquera de *Trigona fulviventris*, culo de chucho.



Figura 4. Nido de de *Trigona fulviventris*, culo de chucho.

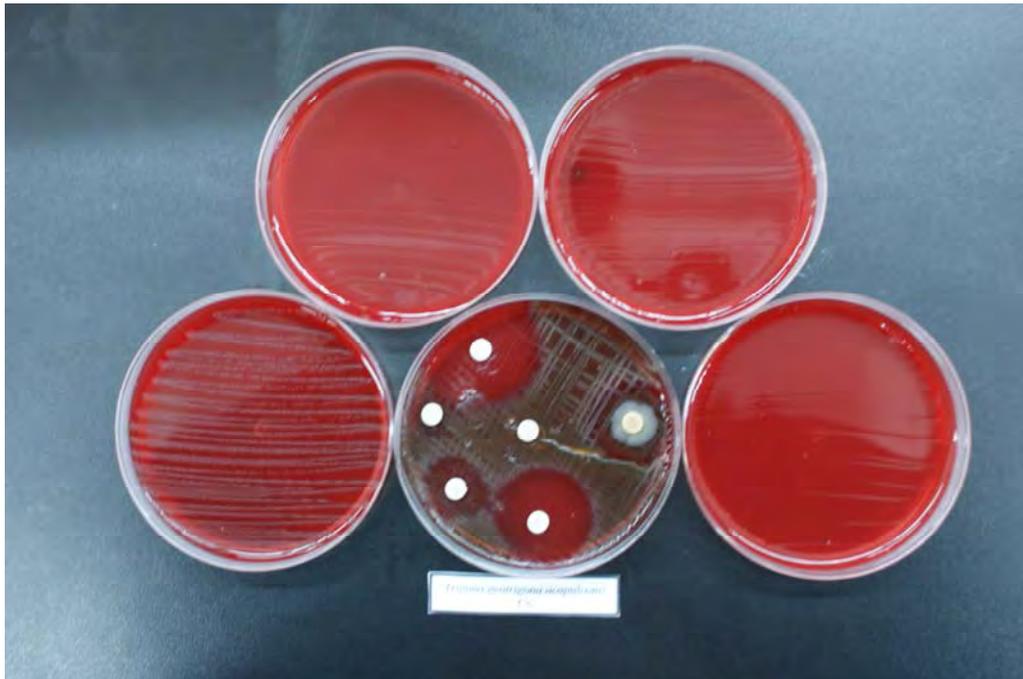


Figura 5. Bioactividad específica de *T. (G.) acapulconis*, talnete.



Figura 6. Halos de inhibición de *T. fulviventris*, culo de chucho



Figura 7. Bioactividad específica de *T. fulviventris*, culo de chucho

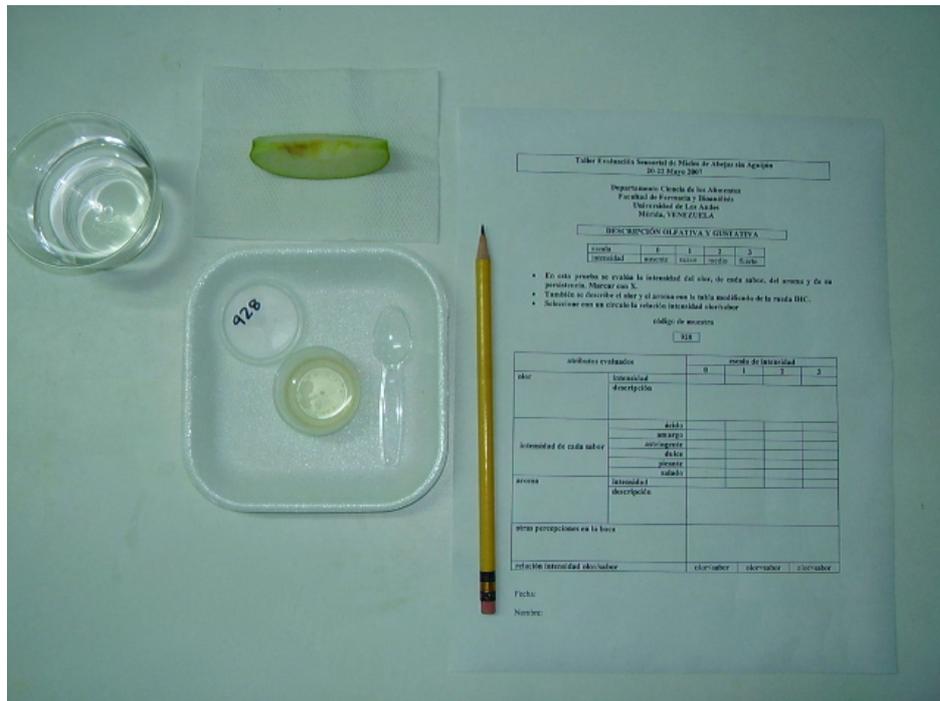


Figura 8. Análisis sensorial de la miel de talnete y culo de chucho.

Taller Evaluación Sensorial de Miel de Abeja via Agave
20-23 Mayo 2017

Departamento: Centro de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Universidad de Los Andes
Mérida, VENEZUELA

DESCRIPCIÓN OLEATIVA Y GUSTATIVA

Intensidad	0	1	2	3
acidez				
amargor				
salado				
dulzor				

- En este prueba se evalúa la intensidad del olor, de cada sabor, del aroma y de su persistencia. Marque con X.
- También se describe el olor y el aroma con la tabla modificada de la rinda IIC.
- Subscriba en un círculo la relación intensidad color/olor

edilgo de muestra

128

atributos evaluados	Intensidad descripción	nivel de intensidad		
		0	1	2
olor	intensidad			
	descripción			
	aroma			
	persistencia			
	color			
sabor	intensidad			
	descripción			
	aroma			
	persistencia			
	color			
otras percepciones en la boca	intensidad			
	descripción			
	aroma			
	persistencia			
	color			
efectos	intensidad color/sabor	color/sabor	olor/sabor	color/sabor

Fecha: _____
Nombre: _____