



ANÁLISIS MELISOPALINOLÓGICO DE LA MIEL OBTENIDA EN EL APIARIO DE LA GRANJA EXPERIMENTAL BOTANA

ANALYSIS MELISOPALINOLOGICAL OF HONEY IN THE APIARY OF THE EXPERIMENTAL FARM BOTANA

Efrén Insuasty-Santacruz, MSc^a, Dayany M. Criollo-Urrego^b, Jhon M. Córdoba-Gómez^b

Recibido: 10-oct-2013 Aceptado: 29-nov-2013

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue realizar un análisis melisopalínológico de la miel obtenida en el apiario de la Granja Experimental Botana, propiedad de la Universidad de Nariño, Pasto, Colombia, y determinar la flora melitófila utilizada por *Apis mellifera* en la producción apícola. Durante el primer semestre del año 2012 se consideró el síndrome de melitofilia y/o frecuencia de visita de *Apis mellifera*, en los distintos recursos florales para su posterior recolección botánica y polínica, realizando la identificación y clasificación taxonómica de 32 especies vegetales de interés apícola de acuerdo a su oferta floral; del total de estas especies, el 53,13% correspondió a nectaríferas-poliníferas, el 28,13% a fuente de polen y el 18,75% restante a nectaríferas; aunado a esto se realizó análisis palinológico de muestras de miel producida por *Apis mellifera* en diferentes épocas del año (enero y julio); para este estudio polínico, se utilizó el protocolo del Centro Agropecuario Marengo (CAM), de la Universidad Nacional de Colombia donde se halló un elevado número de tipos polínicos, resaltando la presencia de cinco palinomorfos correspondientes a las familias Asteraceae, Brassicaceae, Rubiaceae, Graminaceae y Solanaceae, ninguno superó el 45% de aparición. Dichos resultados no evidenciaron cambios en variedad de fuentes vegetales de la flora apícola presente durante las dos muestras de miel, sin embargo, hubo dominancia de las familias Asteraceae y Brassicaceae. Finalmente se concluyó que las muestras corresponden a una miel de origen polifloral; se elaboró así mismo un compendio botánico y palinológico de especies vegetales dominantes y/o no dominantes, cuya actividad de visita fue preponderante las cuales fueron tomadas como referentes importantes para el sostenimiento de las colonias.

Palabras clave: *Apis mellifera*, flora, polen, néctar

ABSTRACT

The objective of this research was to carry out a melisopalínological analysis of the honey obtained from the apiary in the Experimental Farm Botana, property of the University of Nariño, and to determine the melitofilia flora used by *Apis mellifera*, in the apiarian production. During the first semester of the year 2012, the melittophily syndrome and/or frequency of visit of *Apis mellifera* was considered in the different floral resources for its subsequent botanical gathering

^a Docente, Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.

^b Estudiante de Zootecnia, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño, Pasto Colombia. maggy8510@hotmail.com

Artículo de Investigación

and pollination, as well as the identification and taxonomic classification of 32 vegetable species of apiarian interest, according to their floral offer was carried out; out of 58,13% of these species corresponded to the nectariferous-polleniferous species, 28,13% belonged to the pollen source, and 18,75% of the remaining species belonged to nectariferous. A palynological analysis of two samples of honey produced by the *Apis mellifera* was also carried out; this took place in different times of the year (january and july). For this study, the protocol from Universidad Nacional's Marengo Agricultural Center (MAC) was used, where a great number of pollen types were found, for example, the presence of five palynomorphs corresponding to the families: Asteraceae, Brassicaceae, Rubiaceae, Graminaceae and Solanaceae was highlighted; however, none of these exceeded the 45% of occurrence. These outcomes were no evidence of the flora vegetable varieties changes showcased in the two samples of honey; however, there was Asteraceae and Brassicaceae dominance. Finally, it was concluded that the samples belonged to a polyfloral-origin honey; also, a botanical and palynological compendium of the dominant and/or not dominant vegetable species was made; this activity was a relevant aspect for the sustaining colonies.

Key words: *Apis mellifera*, flora, pollen, nectar

INTRODUCCIÓN

La apicultura, en la región se caracteriza por un bajo nivel de desarrollo tecnológico aplicado a sus procesos productivos y por el desconocimiento del subsector a nivel nacional^[1]. Sumado a lo anterior, existe una carencia de gremios regionales con trayectoria que lideren la representación del subsector, subsanen las necesidades de investigación y que impulsen la producción y el desarrollo; esto entre otras falencias han hecho de esta labor una actividad artesanal y doméstica, individualista y poco conocida. Es bien sabido que al momento de ejecutar cualquier tipo de producción pecuaria, el estudio del factor alimento (polen-néctar), es previo y fundamental para evitar tropiezos de tipo técnico a futuro; una buena herramienta al momento de planear este tipo de producción pecuaria es identificar los recursos naturales (flora apícola) con que se alimenta *Apis mellifera*.

Conjuntamente con la observación directa, el método más confiable para corroborar las plantas que están siendo visitadas como fuentes de néctar y polen de una manera significativa es solo mediante el análisis de su contenido polínico^[2].

Por consiguiente, esta investigación se realizó con el fin de determinar el origen botánico de mieles obtenidas en el sistema de producción apícola de la Granja Experimental Botana, e identificar especies vegetales visitadas por *Apis mellifera* fuente de néctar y polen, creando para ello una colección botánica y palinológica de referencia de la flora, que contribuya al fortalecimiento del sistema apícola, impulsando así el desarrollo de futuros estudios palinológicos y fenológicos asociados al campo de la apicultura regional y nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Granja Experimental Botana, propiedad de la Universidad de Nariño, ubicada en el altiplano de Pasto, a una altura de 2800 msnm en las coordenadas geográficas 01° 09' 12" LN y 77° 18' 31" LW, cuenta con

una temperatura promedio de 12,6°C, 900 horas sol/año, humedad relativa del 79% y una precipitación anual de 820 mm/año^[3]. Durante los meses de febrero a junio de 2012, tomando como referencia su bosquejo, se estableció los sitios de muestreo en los cuales se encontró especies silvestres florecidas, cultivos agrícolas, o praderas estable-

cidas para alimentación animal; así se dio prioridad a conseguir una muestra de vegetal florecido, que constituya un área representativa de la flora apícola de esta zona.

Frecuencia de visita

Se utilizó la metodología descrita por Silva y Restrepo^[4], mediante la cual se registró censos de visitas de *Apis mellifera* en las distintas especies florales, evitando días nublados y lluviosos, en dos espacios diarios (9:00-12:00 y 13:00-17:00 horas); los censos fueron realizados por observación directa, en un tiempo de cinco minutos y en un espacio de 1 m² de muestra vegetal florecida que constituyó una área representativa de la flora apícola existente y dominante de la zona; se tomaron los siguientes datos: frecuencia del visitante floral y recurso colectado, las evidencias permitieron identificar las especies fuente de néctar, polen, o ambos recursos en el sistema de producción apícola.

Levantamiento botánico

Se realizó colecciones manuales del material botánico a distintas horas del día, entre las 9:00 y las 17:00, entre febrero y junio, teniendo en cuenta los criterios del síndrome de melitofilia y/o frecuencia de visita. Posteriormente, se efectuó el prensado-secado y montaje de las especies florales, finalmente

clasificadas taxonómicamente por especialistas del Herbario (PSO) de la Universidad de Nariño donde reposan los especímenes.

Colección de polen

Mediante el uso de gel preparado previamente en laboratorio a base de gelatina, glicerina, fuchina y cristales de fenol, se efectuó la colección de polen directamente de los botones florales de los ejemplares ya herborizados; seguido se hizo el montaje en placas depositando el gel con la muestra de polen, para lo cual se hizo necesario derretir el gel con calor para luego proceder a su cubrición con cubre objetos, finalmente con el programa Optika Vision Pro se tomó fotografías a través de microscopio binocular modelo eclipse E-100 con el objetivo panorámico 100X, logrando obtener un compendio de 32 palinomorfos.

Determinación del coeficiente polínico

Esta parte del estudio se desarrolló mediante la toma de muestras de miel colectadas en los meses de enero y julio del 2012, con las cuales se procedió a hacer un análisis melisopalinológico, de acuerdo con el método desarrollado por la Unidad de Apicultura del Centro Agropecuario Marengo, perteneciente a la Universidad Nacional de Colombia.

RESULTADOS Y DISCUSION

El presente estudio basado en el comportamiento etológico de los individuos, reveló la flora apícola disponible para el sustento de *Apis mellifera*, logrando establecer su valor en el sistema de producción apícola de la zona, identificando un total de 21 familias botánicas, de las cuales la familia con el mayor número de especies vegetales encontradas fue Asteraceae, representando el 15,63% del total, seguida por Fabaceae y Solanaceae con el 9,38%; las familias Myrtaceae, Mimosaceae y Rosaceae reportaron el 6,25% para cada una de ellas, finalmente las 15 familias restantes incluyeron el 46,95% (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución porcentual de familias botánicas

Familia	No.	Porcentaje
Asteraceae	5	15,63
Fabaceae y Solanaceae	3 c/u	9,38
Myrtaceae, Mimosaceae y Rosaceae	2 c/u	6,25
Familias restantes (15)	1 c/u	46,95

La Tabla 2 contiene la oferta floral de 32 especies vegetales melíferas identificadas en campo y se evidencia la frecuencia de visita del individuo/especie botánica; están calificadas de acuerdo a la frecuencia de visita de *Apis mellifera* en: baja, media y alta, clasifi-

cación ajustada al protocolo utilizado por Velandia et al^[5].

Del total de estas, el 18,75% corresponden a plantas fuentes de néctar, el 28,13% a fuente de polen y el 53,13% restante a especies nectaríferas-poliníferas (Figura 1); en la apicultura, este tipo de relación encontrada entre el aporte de néctar y polen, es apreciable desde todo punto de vista y para todo productor de miel, quien procure mantener un equilibrio constante de las poblaciones de

abejas. Los presentes resultados apuntan a lo propuesto por Bazurro^[6], quien sostiene que: debe haber una relación entre el aporte de néctar y de polen, un gran aporte de néctar por sí solo, no significa un correcto aprovechamiento de *Apis mellifera*; ya que para que se dé este aprovechamiento, debe existir pe-coreadoras en la colmena, además, el desarrollo de la población de abejas de una colonia está directamente relacionado al aporte polinífero que exista.

Tabla 2. Flora apícola y recurso ofertado

Nombre Científico	Familia	P	N	N/P	No. visita	F visita
Viburnum triphyllum	Caprifoliaceae	x			2	+
Weddellia latifolia	Asteraceae	x			12	+++
Barnadesia spinosa	Asteraceae	x			12	+++
Cleome anómala	Capparaceae	x			8	++
Cupressus sempervirens	Cupressaceae	x			2	+
Tibouchina mollis	Melastomataceae	x			5	++
Pinus patula	Pinaceae	x			3	+
Zea mays	Poaceae	x			7	++
Solanum tuberosum	Solanaceae	x			4	+
Acacia decurrens	Mimosaceae		x		3	+
Rubus sp	Rosaceae		x		8	++
Fragaria vesca	Rosaceae		x		10	+++
Passiflora mixta	Passifloraceae		x		6	++
Physalis peruviana	Solanaceae		x		2	+
Streptosolen jamesonii	Solanaceae		x		6	++
Bomarea multiflora	Alstroemeriaceae			x	9	+++
Zantedeschia aethiopica	Araceae			x	8	++
Hedera hélix	Araliaceae			x	10	+++
Taraxacum officinale	Asteraceae			x	16	+++
Baccharis latifolia	Asteraceae			x	15	+++
Bidens andicola	Asteraceae			x	10	+++
Impatiens sultanii	Balsaminaceae			x	2	+
Tecoma stans	Bignoniaceae			x	4	+
Brassica napus	Brassicaceae			x	15	+++
Medicago sativa	Fabaceae			x	4	+
Trifolium repens	Fabaceae			x	3	+
Trifolium pratense	Fabaceae			x	5	++
Acacia melanoxyton	Mimosaceae			x	3	+
Eucalyptus globulus	Myrtaceae			x	6	++
Eugenia	Myrtaceae			x	6	++
Fuchsia dependens	Onagraceae			x	7	++
Calceolaria colombiana	Scrophulariaceae			x	5	++

P = Poliníferas; N = Nectarífera; P/N = Polineectaríferas; F = Frecuencia
+ Frecuencia baja; ++ Frecuencia media; +++ Frecuencia alta

El estudio presentó resultados afines a los obtenidos en condiciones ambientales muy similares en el Valle de México por Piedras

y Quiroz^[7], con especies nectaríferas tales como *Eucalyptus sp.*, poliníferas *Zea mays*, nectaríferas-poliníferas *Brassica sp* y *Ta-*

taraxacum officinale; también reportes realizadas en la Sabana de Bogotá por Ortiz y Co-gua^[8] y en el departamento de Boyacá por Salamanca et al^[9], incluyendo especies melí-feras importantes en cuanto a la oferta floral, tales como: *Trifolium repens*, *Bidens sp*, *Tecoma stans*, *Physalis peruviana*, *Baccharis sp*, *Acacia decurrens*, *Acacia melanoxylon*, *Passiflora sp*, y *Solanum tuberosum*, entre otras especies reportadas en la presente investigación (Tabla 2).

Después haber realizado el análisis meli-sopalínológico, tal como se reporta en cada una de las dos muestras, se encontró palino-morfos pertenecientes a cinco familias con su respectivo coeficiente polínico o frecuen-cia de aparición, además de ello, se reporta el porcentaje de visita de *Apis mellifera* por familia botánica y la correlación existente

entre las variables (frecuencia de aparición de polen y frecuencias de visita), como se indica en la Tabla 3.

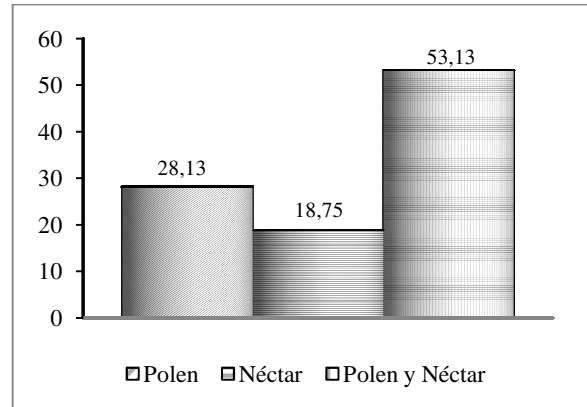


Figura 1. Especies vegetales fuente de néctar, polen y polineectaríferas.

Tabla 3. Coeficientes polínicos y frecuencia de visita.

Tipo polínico	Frecuencia de aparición (%) C1	Frecuencia de aparición (%) C2	Frecuencia de visita/familia (%)
Asteraceae	30,20	35,00	28,49
Brassicaceae	30,00	29,50	32,87
Graminaceae	11,20	13,00	17,53
Rubiaceae	10,00	5,00	0,00
Solanaceae	12,88	10,00	8,77
Otros	5,72	7,50	12,34
	r C I= 0,85	r CII= 0,91	

r: correlación, C: colecta.

De las mieles analizadas se resalta la presencia de cinco palinomorfos de las familias Asterácea, Brassicaceae, Graminaceae, Solanaceae y Rubiaceae; ninguna de las formas polínicas superó el 45%, lo cual, de acuerdo con Hodges^[10], se clasificó el origen de estas mieles como poliflorales; los análisis estadísticos demostraron que, con un nivel de confianza del 95%, no se hay diferencias significativas entre las frecuencias de aparición de los tipos polínicos encontrados en las muestras de mieles colectadas en el primer semestre del 2012, lo cual manifiesta que en el lapso de enero a julio no hubo cambios importantes en la variedad de recursos florales utilizados por *Apis mellifera*, para el sostenimiento de las colmenas, por tanto, estos resultados expresan para la época, la homo-

geneidad de especies florales silvestres y escasa variedad de cultivos establecidos, como lo reporta el sumario de cultivos del 2011 a 2012 de la Granja Experimental Botana.

Por otra parte, existe una correlación estadística fuerte y positiva entre las variables frecuencia de aparición de los tipos polínicos y las frecuencias de visita en las principales familias botánicas utilizadas por *Apis mellifera* como fuente de alimento; Acosta et al^[11] mencionan que *Apis mellifera* visita preferentemente plantas que proveen ambos recursos (néctar-polen), lo cual presume que aquellas especies de plantas que fueron mayormente visitadas y pertenecientes a las familias Asteraceae y Brassicaceae tales como *Bidens andicola*, *Taraxacum officinale*,

Baccharis latifolia y *Brassica napus*, todas y en su orden polineectaríferas, son un recurso vegetal presente y dominante utilizada como fuente para el sostenimiento de las colonias. La familia Asteraceae, la cual presentó la mayor abundancia de especies encontradas (15,63%), fue considerada de suma relevan-

cia para la apicultura de esta zona, como lo enseñan Faria-Mucci et al^[12], quienes afirman que la importancia de Asteraceae en el trópico para las abejas, se explica por la diversificación de la familia y su abundancia, que aumenta la accesibilidad de los recursos florales.

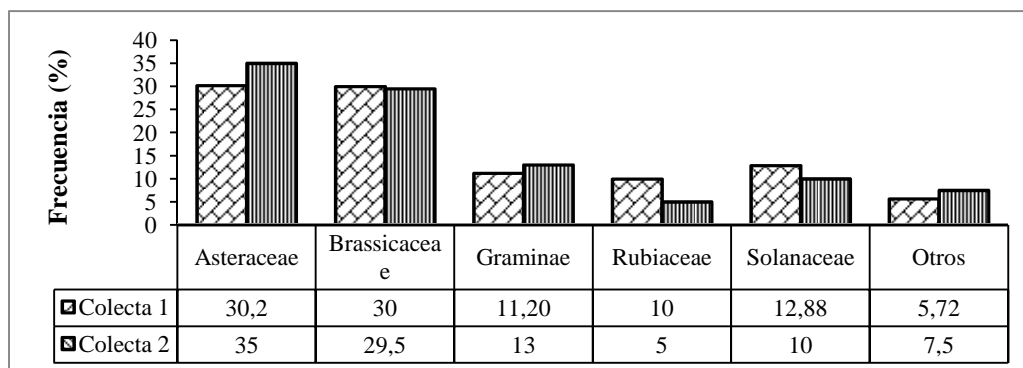


Figura 2. Coeficientes polínicos de las dos muestras (enero y julio)

Se clasificó como especies de importancia menor, las pertenecientes a las familias Gramínea, Solanaceae y Rubiaceae, las cuales no representaron dominancia frente a las familias anteriormente mencionadas; sin embargo, no dejan de ser apreciables para *Apis mellifera*, puesto que contribuyen al sostenimiento de la colonia en las épocas en que hay escasos recursos florales como afirma Giron^[13], así mismo Villanueva^[14], quien sostiene que especies de gramíneas anemófilas, regularmente ignoradas por *Apis mellifera*, pueden ser visitadas por la gran cantidad de polen que producen, afirmaciones que toman más razón en sistemas poco tecnificados, donde la apicultura es una actividad complementaria a la agricultura.

Como se observa en la Tabla 4, del total de las especies vegetales de referencia para la producción de miel de la Granja Experimental Botana, el 34% se califican con frecuencia baja, 38% con una frecuencia media y el 28% restante corresponde a una frecuencia alta. Entre las más destacadas y con frecuencia alta, apuntaron especies pertenecientes a la familia Asteraceae tales como *Taraxacum officinale*, *Baccharis latifolia*, al igual que Brassicaceae como *Brassica napus*, todas estas recibieron de *Apis mellifera* una frecuencia eminente, la cual osciló entre

14 y 16 visitas. Se destaca la familia Asteraceae con *Weddelia latifolia* y *Barnadesia spinosa* 12 visitas para cada una; de igual forma, no fueron menos importantes los cultivos establecidos como *Fragaria vesca* que obtuvieron 10 visitas y *Rubus sp* con ocho, entre otras.

Tabla 4. Tabla de frecuencia (Número de visitas agrupadas)

No. de Visitas	Especies	Especies Acumuladas	Especies (%)
2-4	11	11	34
4-6	7	18	22
6-8	5	23	16
8-10	4	27	13
10-12	2	29	6
12-14	0	29	0
14-16	3	32	9

Fue posible encontrar una actividad media en los cultivos de *Zea mays*, *Passiflora mixta* y *Trifolium pratense*, la cual fue baja en especies vegetales como *Pinnus patula*, *Acacia decurrens* y *Cupressus sempervirens*, tal como se puede observar claramente en la Tabla 2.

Por último, se elaboró un compendio botánico y palinológico de 32 especies, tomadas como referente importante para el pecoreo de las abejas obreras (Figura 4).

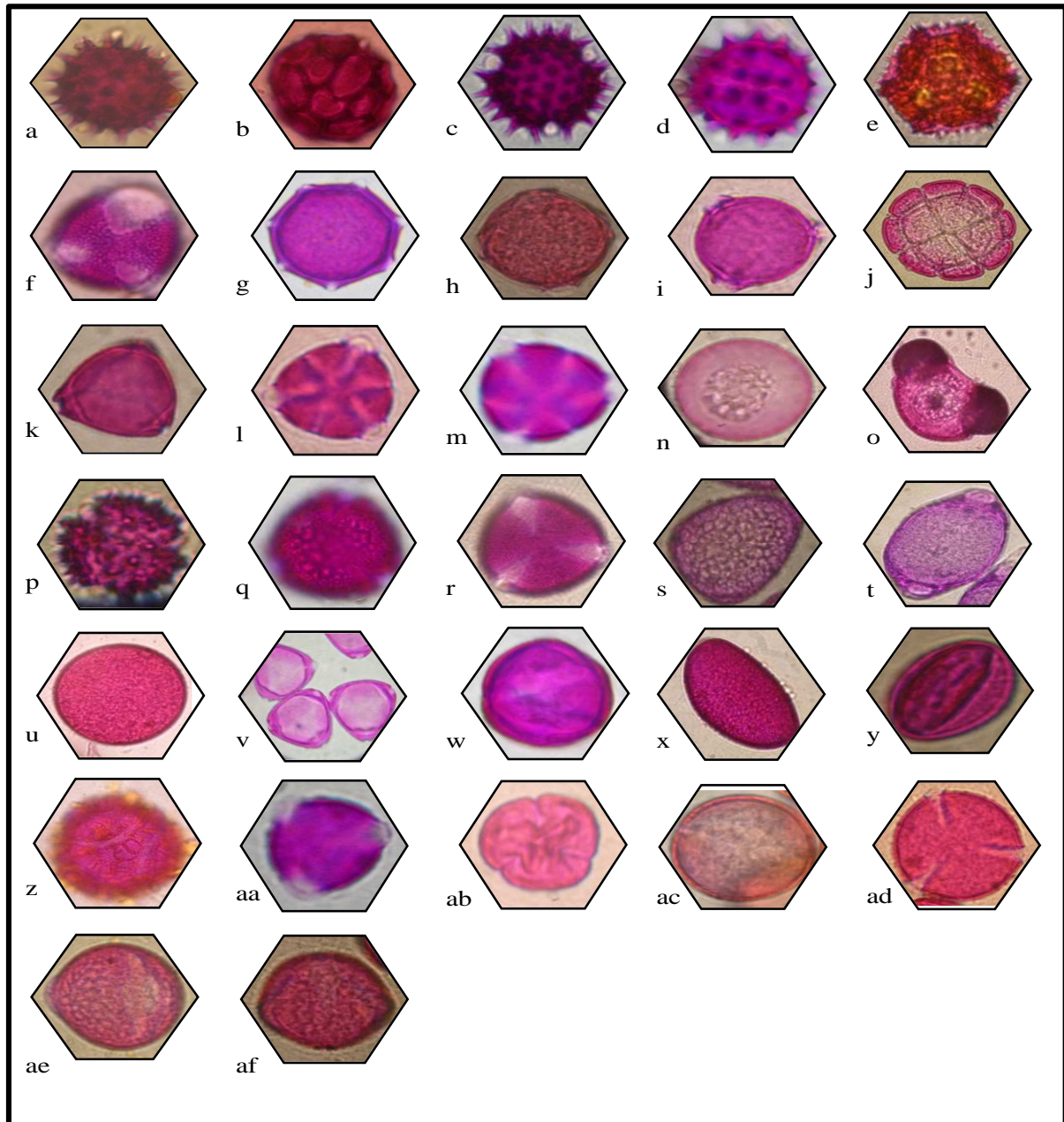


Figura 4. Palinomorfos de la flora apícola. a) *Weddellia latifolia*, b) *Barnadesia spinosa*, c) *Bidens andicola*, d) *Baccharis latifolia*, e) *Taraxacum officinale*, f) *Brassica napus*, g) *Streptosolen jamesonii*, h) *Physalis peruviana*, i) *Solanum tuberosum*, j) *Acacia decurrens*, k) *Acacia melanoxylon*, l) *Bomarea multiflora*, m) *Tibouchina mollis*, n) *Cupressus sempervirens*, o) *Pinus patula*, p) *Viburnum triphyllum*, q) *Hedera hélix*, r) *Tecoma stans*, s) *Impatiens sultanii*, t) *Fuchsia dependens*, u) *Zea mays*, v) *Eucalyptus globulus*, w) *Eugenia sp.*, x) *Zantedeschia aethiopica*, y) *Cleome anómala*, z) *Passiflora mixta*, aa) *Calceolaria colombiana*, ab) *Rubus sp.*, ac) *Fragaria vesca*, ad) *Medicago sativa*, ae) *Trifolium pratense*, af) *Trifolium repens*.

CONCLUSIONES

De las mieles analizadas se resalta cinco palinomorfos de las familias Asteráceae, Brassicaceae, Graminaceae, Solanaceae y Rubiace-

ae; ninguna de las formas polínicas supero el 45%, por lo cual se clasifica el origen de estas mieles como poliflorales.

En el ecosistema estudiado, Asteraceae fue sin duda la familia mayormente biodiversa y abundante de esta zona, por tanto, sus especies en su mayoría polinectaríferas son consideradas como fuentes importantes para el sustento de *Apis mellifera* y para la producción de miel; de igual modo, Brassicaceae, familia abundante y poco diversa, con *Brassica napus*, se destacó como un recurso floral con alta frecuencia de visita, que de la misma forma puede ser considerado como indicador de interés apícola que contribuye significativamente al mismo proceso.

El equilibrio de los recursos ofertados (polen-néctar) en el ecosistema, garantizan que *Apis mellifera* haga un buen aprovechamiento de la flora disponible para su alimen-

tación y producción de miel, destacando así sus atributos de ser una especie de comportamiento generalista y recursivo.

Finalmente, cabe destacar que la Granja Experimental Botana cuenta con un número considerable de familias botánicas, poco diversa pero abundante, de interés apícola tales como: Solanaceae con *Streptosolen jamesonii*, *Solanum tuberosum* y *Physalis peruviana*; Graminaceae con *Zea mays*, Alstromeliaceae con *Bomarea multiflora*, Caparaceae, *Cleome anómala*, Passifloraceae, *Passiflora mixta* y Scrophulariaceae, *Calceolaria colombiana*, entre otras, que logran ser una fuente de alimento para el sostenimiento de la colmena en épocas de escasa floración.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Silva-Garnica D, Arcos-Dorado A, Gómez-Díaz J. Guía Ambiental Apícola. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2006.
- [2] Sawyer R. Honey identification. Wales: Cardiff Academic Press; 1988.
- [3] Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). Datos Meteorológicos. Pasto [Colombia]: Estación meteorológica Botana; 2005.
- [4] Silva LM, Restrepo S. Flora apícola: determinación de la oferta floral apícola como mecanismo para optimizar producción, diferenciar productos de la colmena y mejorar la competitividad. Bogotá: Instituto Humboldt; 2012.
- [5] Velandia M, Restrepo S, Cubillos P, Aponte A, Silva LM. Catálogo fotográfico de especies de flora apícola en los departamentos de Cauca, Huila y Bolívar. Bogotá: Instituto Humboldt; 2012.
- [6] Bazzurro D. Flora apícola: Momento de floración oportuno. Uruguay: Reverte; 1998.
- [7] Piedras-Gutiérrez B, Quiroz-García D. Estudio melisopalínológico de dos mieles de la porción sur del Valle de México. Polibotánica. 2007; (23): 57-75.
- [8] Ortiz-Boada D, Cogua J. Reconocimiento de granos de polen de algunas plantas melíferas en la sabana de Bogotá. Agronomía Colombiana. 1989; VI: 52-63.
- [9] Salamanca-Grosso G, Vargas-González E, Pérez-Figueroa C. Flora apícola indicadora de la pradera colombiana del sector de Boyacá. Tunja [Colombia]: Facultad de Agronomía. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia; 2001. Consultado el [27 de Septiembre 2013] Disponible en internet: http://www.apiservices.com/articulos/salamanca/flora_pradera.htm.
- [10] Hodges D. Pollen loads of the honey bee. 2nd ed. Brighton [UK]: G. Beard & Son; 1984.
- [11] Acosta-Castellanos S, Quiroz-García L, Arreguin-Sánchez M, Fernández-Nava R. Análisis polínico de tres muestras de miel de Zacatecas, México. Polibotánica. 2011; (32): 179-191.
- [12] Faría-Mucci G, Melo M, Campos L. A fauna de abelhas (Hymenoptera: Apoidea) e plantas usado como fonte de meios florais, em um ecossistema de campos rupestris em Lavras Novas, Minas Gerais, Brasil. Em: Melo, G, Alves-Dos-Santos I. (eds.) Apoidea Neotrópica: Homenagen aos 90 anos de Jesús Santiago Moure. Criciúma: Editora UNESC; 2003. p. 241-256.

- [13] Giron-Vanderhuck M. Análisis palinológico de la miel y la carga de polen colectada por *Apis mellifera* en el sureste de Antioquia, Colombia. Univ. Valle; 1995. 3(2): 35-54.
- [14] Villanueva R. Plantas de importancia apícola en el ejido de Plan del Río, Veracruz, México. Biótica; 1984. 279-340.