



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

Facultad de Ciencias Agrarias

Escuela de Agronomía

**Suplementación protéica en abejas, alimentadas
con harina de lupino y harina de soya.**

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Agronomía.

Cristian Enrique Alvarez Torres

Valdivia Chile 2002

PROFESOR PATROCINANTE

Miguel Neira C.
Ing. Agr.

PROFESORES INFORMANTES

Roberto Carrillo Ll.
Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.

Ricardo Fuentes P.
Ing. Agr., M. Sc.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	<i>Apis mellifera L.</i>	3
2.1.1	Clasificación taxonómica	3
2.2	Nutrición de las abejas	3
2.2.1	Rol de las proteínas en <i>Apis mellifera L.</i>	4
2.2.2	Rol de los lípidos en <i>Apis mellifera L.</i>	7
2.3	Alimentación de las abejas	9
2.3.1	Alimentación suplementaria	9
2.3.2	Suplementación proteica	10
2.4	Razones de utilizar los suplementos de harina de lupino y harina de soya	12
2.5	Composición química de la soya y el lupino albo	14
2.6	Azúcar en la dieta de <i>Apis mellifera L.</i>	17
2.7	Mortalidad de las abejas en la invernada	18
3	MATERIALES Y METODOS	19
3.1	Ubicación del ensayo	19
3.2	Material	19
3.2.1	Material biológico	19
3.2.2	Material apícola	19

Capítulo		Página
3.2.3	Suplementos alimenticios	19
3.2.3.1	Harina de lupino	20
3.2.3.2	Harina de soya	20
3.2.3.3	Azúcar	20
3.2.3.4	Miel	20
3.2.4	Otros materiales	20
3.2.4.1	Material de laboratorio	20
3.2.4.2	Material de terreno	21
3.3	Metodología	21
3.3.1	Período experimental	21
3.3.2	Diseño experimental	21
3.3.3	Descripción de los tratamientos	21
3.3.4	Forma de aplicación de los tratamientos	22
3.3.4.1	Suministro de lupino	22
3.3.4.2	Suministro de soya	22
3.3.4.3	Suministro de azúcar	22
3.3.5	Condiciones del suministro	22
3.3.6	Toma de muestras de suplemento alimenticio	22
3.3.7	Toma de muestras de abejas	23
3.3.8	Análisis de laboratorio de las muestras de abejas	23
3.3.8.1	Análisis de materia seca	23
3.3.8.2	Análisis de proteínas	23
3.3.8.3	Análisis de lípidos	25
3.3.8.4	Identificación de lípidos	25
3.3.9	Parámetros evaluados	26
3.3.10	Análisis estadístico de los datos	26

Capítulo		Página
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	27
4.1	Efecto de los suplementos en <i>Apis mellifera</i> L.	27
4.1.1	Nivel de proteína en la abeja	27
4.1.2	Nivel proteico en cada época de muestreo	28
4.1.3	Nivel de lípidos en <i>Apis mellifera</i> L.	32
4.1.4	Nivel de lípidos en cada toma de muestras	34
4.2	Composición y evaluación de los lípidos corporales en las abejas	37
4.2.1	Acidos grasos saturados	38
4.2.2	Acidos grasos monoinsaturados	40
4.2.3	Acidos grasos poliinsaturados	42
4.2.4	Acido linoleico	45
4.2.5	Acido linolénico	46
4.2.6	Acido eicosatrienoico	48
4.2.7	Acido araquidico	49
4.3	Consumo de los suplementos proteicos	52
5	CONCLUSIONES	56
6	RESUMEN	58
	SUMMARY	59
7	BIBLIOGRAFIA	60
	ANEXOS	67

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Clasificación funcional de las proteínas	5
2	Composición química de las semillas de soya y lupino	15
3	Principales componentes proteicos de soya y lupino	16
4	Composición aminoacídica de semillas de soya y lupino	17
5	Proteína corporal de las abejas, porcentaje promedio en cada uno de los tratamientos	27
6	Proteínas en las abejas, porcentaje promedio en tres fechas de evaluación	29
7	Porcentaje de proteínas en <i>Apis mellifera L.</i> , para los distintos tratamientos en cada muestreo	30
8	Porcentaje de lípidos corporales en las abejas, para cada tratamiento, al terminar el ensayo.	33
9	Porcentaje de lípidos corporales en las abejas, en tres fechas de evaluación	35
10	Porcentaje de lípidos en <i>Apis mellifera L.</i> , para los distintos tratamientos en cada muestreo	36
11	Acidos grasos de mayor contenido en el cuerpo de las abejas sometidas a ensayo	38
12	Porcentaje de ácidos grasos saturados en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en los distintos tiempos de evaluación	39
13	Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en los distintos tiempos de evaluación	41

Cuadro		Página
14	Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en los distintos tiempos de evaluación	42
15	Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados y ácidos grasos totales, y entre los poliinsaturados y demás ácidos grasos	44
16	Contenido porcentual de ácido linoleico en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en las distintas fechas de evaluación	45
17	Contenido porcentual de ácido linolénico en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en los distintos tiempos de evaluación	46
18	Porcentaje de ácido eicosatrienoico, para cada tratamiento en las distintas fechas de evaluación de las abejas	48
19	Contenido porcentual de ácido araquídico, en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en las distintas fechas de evaluación	50
20	Relación entre el ácido eicosatrienoico y el ácido araquídico	51
21	Consumo de los tratamientos en cada muestreo, expresado en gramos	53

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Producción de miel en colmenas suplementadas con proteína de soya, en relación a un testigo sin soya	12
2	Distancia recorrida por las abejas alimentadas con una suplementación de soya, en comparación a un control. En m ² según original	13
3	Cantidad de crías obreras, en colmenas alimentadas con sustituto proteico a base de soya, en relación a uno sin soya (Control)	14
4	Diagrama del análisis de proteína, según SCHMIDT-HEBBEL, 1984	24
5	Nivel de proteína en las abejas, en cada tratamiento alimenticio	28
6	Nivel de proteína en las abejas, en porcentaje por fecha de muestreo	30
7	Nivel proteico de las abejas, en los distintos tratamientos y fechas de evaluación	32
8	Contenido de lípidos en las abejas, porcentaje para cada tratamiento, al terminar el ensayo	33
9	Contenido de lípidos en las abejas, porcentaje para cada muestreo	35
10	Nivel porcentual de lípidos en las abejas, en los distintos tratamientos	37
11	Contenido de ácidos grasos saturados, en el cuerpo de las abejas en cada tratamiento	40

Figura		Página
12	Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados, en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo	41
13	Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo	43
14	Contenido de ácido linoleico, en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo, expresado en porcentaje	46
15	Contenido de ácido linolenico, en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo, expresado en porcentaje	47
16	Contenido de ácido eicosatrienoico, en el cuerpo de las abejas, porcentaje durante el período del ensayo	49
17	Contenido de ácido araquidico, en el cuerpo de las abejas durante el período de ensayo, expresado en porcentaje	51
18	Consumo de los tratamientos, en las dos fechas de retiro del alimento sobrante, en gramos	54
19	Evolución del consumo de los tratamientos, durante el período de evaluación	55

INDICE DE ANEXOS

Anexo		página
1	Cronograma de la toma de muestras	68
2	Contenido de proteínas en abejas, (%)	69
3	Contenido de lípidos en abejas, (%)	69
4	Consumo (g), de las mezclas usadas para los tratamientos	70
5	Análisis de varianza para el nivel de proteína.	71
6	Tabla de promedios estadísticos para el nivel de proteína. 95% confianza	72
7	Condiciones climáticas durante el período del ensayo.	73
8	Análisis de varianza para el nivel de lípidos	74
9	Tabla de promedios estadísticos para el nivel de lípidos. 95% confianza	74
10	Análisis de varianza para ácidos grasos saturados	75
11	Análisis de varianza para ácidos grasos monoinsaturados	75
12	Análisis de varianza para ácidos grasos poliinsaturados	76
13	Composición de ácidos grasos en el cuerpo de las abejas, durante el ensayo	77
14	Análisis de varianza para el ácido linoleico	78
15	Análisis de varianza para el ácido linolénico	78
16	Análisis de varianza para el ácido eicosatrienoico	79
17	Análisis de varianza para el ácido araquídico	79
18	Análisis de varianza para el consumo de los tratamientos	80

Anexo		página
19	Análisis de varianza para el consumo por colmena al día	80
20	Test de rangos múltiples para el consumo de alimentos. Método : 95% TUKEY HSD	81

1. INTRODUCCION

Las abejas productoras de miel, al igual que otros seres vivos, requieren proteínas, hidratos de carbono, minerales, lípidos, vitaminas y agua para su normal desarrollo y crecimiento. En las abejas estas necesidades son satisfechas por la recolección de néctar y polen de las flores, siendo el polen, el que normalmente satisface los requerimientos dietéticos de proteínas, minerales, lípidos y vitaminas, y el néctar aporta azúcares y energía.

Sin embargo, cuando el polen recolectado es escaso o simplemente cuando el alimento de reserva ha sido sustraído por el hombre desde las colmenas, es útil aplicar, en tales circunstancias, un suministro alimenticio sustituto, que ayude a las colonias a mantener procesos importantes, tales como su ritmo de crecimiento, la reposición de la cría, y principalmente la supervivencia de los insectos que forman la colonia.

La investigación propuesta consiste en experimentar con dos alimentos utilizados como suplementos en la dieta de abejas. Uno de estos alimentos fue elegido por la existencia de antecedentes importantes en otros países de su uso en la dieta de las abejas, este producto corresponde a la harina de soya. El segundo alimento utilizado es el lupino, que también fue aplicado en forma de harina, el cual fue elegido a fin de reunir información acerca de su potencial como alimento suplementario en la dieta de las abejas, considerando que en Chile es de fácil adquisición y es producido en el país, además por su alto contenido de proteína. Estos dos suplementos alimenticios, harina de lupino y harina de soya son catalogados como alimentos proteicos, razón por la cual fueron usados en la dieta de las abejas como suplementos proteicos, con el objetivo de conocer las respuestas de las abejas a estos suplementos alimenticios durante la invernada de éstas, en Valdivia.

Básicamente la hipótesis se sustenta en que existiría una relación entre el nivel proteico de la dieta y la condición corporal de la abeja.

Específicamente los objetivos son :

- Evaluar la capacidad de consumo de alimentos suplementarios por parte de las abejas, durante la invernada.
- Determinar el nivel proteico de las abejas alimentadas con harina de lupino y con harina de soya.
- Medir el nivel lipídico y su composición en el cuerpo de las abejas sometidas a ambos tratamientos.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 *Apis mellifera* L.

Es el insecto más importante para las especies vegetales de polinización entomófila, debido a su biología, morfología, conductas de recolección de alimentos y a su vida en colonia. Pero la característica que más las identifica en el común de las personas, es su capacidad de producir miel.

2.1.1 Clasificación taxonómica. BORROR (1976), indica que *Apis mellifera* L., pertenece a :

Phylum	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Hymenoptera
Superfamilia	Apoidea
Familia	Apidae
SubFamilia	Apinae
Tribu	Apine
Genero	Apis
Especie	<i>Apis mellifera</i> L.

2.2 **Nutrición de las abejas**

Las abejas al igual que los demás seres vivos, poseen requerimientos para su normal crecimiento, desarrollo y sobrevivencia, es así, que en éstos insectos tales requerimientos son básicamente proporcionados por el polen y el néctar, los que aportan principalmente proteínas y energía, respectivamente (MILLS, 1981).

La satisfacción de las necesidades nutritivas de una colonia de abejas, no sólo depende de la cantidad de polen disponible en la naturaleza, sino también de su calidad (CRANE, 1990).

Existe una estrecha relación entre la cantidad de alimento disponible y aprovechado, y el crecimiento y tamaño de la población de abejas dentro de una colonia y la eficiencia de trabajo de éstas, las que actuarían en forma proporcional (FAKUDA, 1983).

Indudablemente que las proteínas juegan un papel importante en la alimentación de las abejas, más aún, estas son de vital importancia en los estadios tempranos de las tres castas de abejas, es así como cálculos de alimentaciones experimentales indican que entre 4 y 6 mg de N son necesarios en la dieta de las obreras para criar una larva, dependiendo del tipo de cría que se trate (HAYDAK, 1970).

2.2.1 Rol de las proteínas en *Apis mellifera* L. De todos los componentes químicos conocidos en la naturaleza, las proteínas son las más complejas, siendo fundamentales en todas las formas de vida conocidas. Están presentes en todas las células vivas, participando de diversas funciones y actividades ya sea como proteínas estructurales, proteínas intersticiales, enzimas, hemoproteínas, hormonas, etc. La participación de la proteína en las funciones del insecto son descritas en el Cuadro 1. Es así como las abejas requieren cantidades adecuadas de proteínas para el desarrollo del tejido corporal, músculos y glándulas, como por ejemplo las glándulas hipofaringeas, que dependen del suministro proteico en la dieta de las abejas para que se desarrollen en forma óptima (ROCKSTEIN, 1978).

CUADRO 1 Clasificación funcional de las proteínas.

Tipo	Ejemplo
Proteínas no asociadas	Enzimas Anticuerpos Hormonas Hemoglobinas
Proteínas asociadas	Miosina Actinia Trofomiosina Trofonina
Asociadas con membranas	Glicoproteínas Licoproteínas
Asociadas con ac. nucleicos	Proteína ribosomal Histonas
Proteínas estructurales	Colágeno Elastina Fibrinas

FUENTE : ROCKSTEIN (1978).

Las abejas obreras en sus primeras etapas de adultas, obtienen prácticamente la totalidad del nitrógeno desde las proteínas del polen, por consiguiente, las abejas jóvenes deben consumir grandes cantidades de polen en las primeras semanas de vida adulta. En algunas abejas productoras de miel, las obreras, comienzan a consumir polen dentro de las primeras dos horas después de la emergencia, y además dentro de las primeras doce horas después de la emergencia, el 50 por ciento o más de las obreras, ya han consumido polen en pequeñas cantidades (WINSTON, 1987). Sin embargo, Hagerdon y Moeller citados por GRAHAM (1992), señalan que el consumo de las obreras comienza cuando las abejas tienen 42 a 52 horas de vida, y alcanzan un máximo cuando tienen cinco días.

Dentro de los primeros cinco días después de la emergencia de los adultos, el volumen de nitrógeno aumenta un 93 % en la cabeza, un 76 % en el abdomen, y un 37 % en el tórax (HAYDAK, 1934), alcanzando estos órganos su máximo desarrollo en el zángano a 14 días de vida y en la reina al 2º año (HAYDAK, 1970). Simultáneamente en este primer período, se desarrollan sus glándulas hipofaríngeas, cuerpos grasos y otros órganos interiores (SZYMAS y TORGOWSKI, 1980).

El nivel de proteína recolectado, que proviene de diferentes tipos de polen varía desde un 8 % a un 40 %. Esta gran variación en las composiciones químicas causa igualmente variabilidad en el valor nutritivo de la comida, y como consecuencia, se pueden obtener distintos efectos fisiológicos en las abejas (Mauricio 1967, citado por GRAHAM, 1992).

El contenido de proteínas del polen es importante por cuanto en él están presentes casi todos los aminoácidos esenciales para la vida, especialmente en los primeros estadios (HERBERT, 1992). Las larvas en sus primeros estadios se surten de los aminoácidos que estaban destinados a una planta. Además del contenido proteico que posee el polen, éste es muy rico en vitaminas y en menor proporción en hidratos de carbono y minerales (SEPULVEDA, 1980).

KLEINSSCHMIDT y KONDOS (1978), estudiaron la importancia de la proteína del polen para las abejas, y determinaron que al no estar satisfechas las necesidades de proteína en la colonia, esta se verá limitada en sus funciones, a la vez ésta deficiencia proteica en su nutrición se reflejará en el nivel de nitrógeno que posean las abejas en su cuerpo, el cual disminuirá.

La cantidad de proteína necesaria para el crecimiento y desarrollo de las abejas depende de la cantidad y composición de aminoácidos de las proteínas

y de los requerimientos del organismo en cuanto a aminoácidos (SHUEL y DIXON, 1986).

HAYDAK (1970), estableció los siguientes 10 aminoácidos y sus cantidades proporcionales como esenciales para el crecimiento de las abejas adultas: Arginina 3%, Histidina 1,5%, Lisina 3%, Triptófano 1%, Fenilalanina 2,5%, Metionina 1,5%, Treonina 3%, Leucina 4,5%, Isoleucina 4% y Valina 4%.

Según JOHANSSON (1978), 454 gramos de polen son necesarios para la crianza de 4.000 abejas. Puesto que una colonia fuerte, cría aproximadamente 200.000 abejas por año, entonces se requerirían para ello 22.7 kilos de polen por colonia (Nolan 1932 citado por GRAHAM, 1992).

2.2.2 Rol de los lípidos en *Apis mellifera* L. Los lípidos son un grupo de compuestos heterogéneos muy abundante en la naturaleza, los cuales tienen ciertas características en común. Están formados por C, O, H y en algunos casos pueden contener P y N (FAKUDA, 1983).

Los lípidos en general cumplen una serie de roles en la dieta de los insectos. Además de ser la principal fuente de energía, son constituyentes normales de la estructura celular y también participan en funciones de la membrana celular, son fuente de ácidos grasos esenciales para el organismo, donde destaca la síntesis de prostaglandinas, que regulan el nivel de lípidos en la hemolinfa de las abejas. Además son vehículo de vitaminas liposolubles y aportan otros componentes importantes como pigmentos, carotenoides, esteroides, etcétera (MASSON y MELLA, 1985).

HEINRICH (1980), cita la importancia de una buena reserva y disponibilidad lipídica en la alimentación de las abejas, ya que, los lípidos son vitales en dos de las actividades que él considera más importantes para las

abejas, el vuelo y la regulación de la temperatura corporal, que toma mayor relevancia en condiciones de temperaturas extremas.

SHAPIRO (1988), sostiene que durante el vuelo las abejas utilizan lípidos como combustible. Tal proceso está íntimamente asociado al uso de una lipoproteína, específicamente con la presencia de la apoLp-III, la cual se encuentra libre en la hemolinfa. Además existe una movilización de lípidos desde el cuerpo graso, el cual es afectado por la hormona adipocinética, que es causante del almacenaje de triacilglicerol y luego se descarga como diacilglicerol desde el cuerpo graso durante el vuelo.

BURR y BURR (1929), observaron que la ausencia del ácido linoleico C 18:2, y el alfa linolénico C 18:3, producen un síndrome de deficiencia, ya que el organismo no puede introducir dobles enlaces entre el grupo medio terminal y el primer doble enlace que aparece en la cadena hidrocarbonada del respectivo ácido graso. De aquí se deduce la importancia de estos ácidos grasos esenciales, ya que por una parte la estructura terminal permanece inalterable, y por otra no es posible el paso de un ácido graso de una familia a otra (GRAHAM, 1992).

Cuando no hay suficiente aporte de ácido linoleico en la dieta de las abejas, las cantidades de ácido oleico transformadas en ácido eicosatrienoico (C20:3) aumentan, causando una deficiencia de ácidos grasos esenciales, por lo tanto la relación ácido eicosatrienoico (C20:3) ácido araquidónico (C20:4) puede servir como información de carencia y se mide en los lípidos del suero. Un valor normal es de 0,1, cuanto menor sea la relación mejor se considera el aporte de ácidos grasos esenciales (HOLMAN, 1970).

No se han encontrado recomendaciones para el ácido linoléico (C18:3), el cual interviene en forma importante como lípido estructural en la retina y

cerebro. Se estima recomendable un 0,5% de las calorías totales (BURR y BURR, 1930).

Otro indicador de un buen aporte de lípidos, es la relación entre los ácidos grasos poliinsaturados y ácidos grasos totales, ya que al existir un consumo excesivo de poliinsaturados, se puede tener efectos potencialmente adversos, como un aumento en los requerimientos de vitamina E que se ha relacionado con el envejecimiento prematuro y cambios en la capacidad antioxidativa del organismo (HODGES, 1985).

2.3 Alimentación de las abejas.

Los alimentos de las abejas deben contener albúminas, lípidos y glúcidos que son necesarios para el crecimiento de éstas y el desarrollo de la colonia, con lo cual podrán llevar a cabo sus actividades en forma normal. Como complemento dietético también necesitan agua, sales minerales y vitaminas, siendo estas sustancias obtenidas principalmente del néctar y el polen de las flores. Este proceso está relacionado con la etapa de floración de las plantas, que es cuando las abejas recolectan sus alimentos y los almacenan para posteriormente utilizarlos en todas las estaciones del año, con lo cual podrán mantener su nivel trófico (COOK y WILKINSON, 1986).

2.3.1 Alimentación suplementaria. En *Apis mellifera* L, la acumulación de alimentos tiende siempre a ser superior a sus necesidades, en prevención de emergencias ambientales. Sin embargo, cuando se han agotado las reservas de las colonias y el medio no ofrece posibilidades de suministrarlas, o bien las condiciones meteorológicas no permiten el pecoreo, o simplemente con la intervención del hombre, se les ha sustraído lo que se considera alimento excedente de su consumo para emplearlo en la alimentación humana, así se crea una situación de desequilibrio, no quedando otra solución que el

suministrar una alimentación suplementaria, pues en su defecto morirían (SEPULVEDA, 1980).

Importante es destacar que la principal problemática del uso de sustitutos del polen, es que no estimulan el consumo, por cuanto no aportan sustancias atractivas, necesarias para que las abejas acepten el producto ofrecido. Sin embargo esta fagoestimulación se puede incrementar mediante la agregación de miel o polen (LOUVEAUX, 1978).

2.3.2 Suplementación proteica. Los apicultores a menudo suplementan las dietas de las abejas durante los períodos de carencia de polen y néctar. La cantidad de polen y néctar entrante, y las reservas de comida en la colmena determinarán si las abejas necesitan o no de recursos alimenticios suplementarios (GRAHAM, 1992).

Cuando el polen es escaso, los apicultores pueden alimentar las abejas con dietas de proteína suplementaria. Estas proteínas son suministradas como polen complementario o sustituyentes del polen. Un sustituto del polen es cualquier material que, al alimentar las colonias de abejas, reemplaza el aporte de polen de esa colonia por un período corto de tiempo. Pero también un sustituto del polen u otras proteínas pueden llegar a ser un polen complementario cuando se agregan en la dieta como un atrayente o para aumentar el valor nutritivo de la dieta (HERBERT, 1992).

La sustitución del polen natural en la alimentación de las abejas no es una cosa fácil de conseguir, es así como se han empleado numerosos productos tratando de obtener la mejor dieta para las abejas, según SHIMANUKI y HERBERT (1986), cuando falta polen, el producto a usar como sustituto debe ser lo más similar, teniendo en cuenta que éste sea bien

aceptado por las abejas, barato, fácil de conservar y preparar, que no cause trastornos digestivos y que produzca crías vigorosas.

Se tiene referencia de buenos resultados obtenidos con la harina de soja, mezclada con polen natural, en la proporción de tres partes de harina de soja con una de polen. Idealmente es deseable que la harina esté desengrasada. Puede añadirse a esta mezcla una parte de leche en polvo sin grasa, si bien su utilidad no es aceptada por todos los investigadores apícolas (CRANE, 1990).

La colocación del suplemento en el sitio apropiado, lo más cerca del nido, es cuestión muy importante, y posiblemente sea la causa de algunos fracasos al utilizar suplementos alimenticios en abejas (OHE, 1987), por lo que se recomienda poner estos alimentos por encima del racimo de abejas, para compensar la deficiencia del producto natural. De esta manera se aumenta en forma considerable la cantidad de crías y abejas (ZAYTOON *et al.*, 1988).

HAYDAK (1937), halló que colonias alimentadas con harina de soya, mezclas de leche en polvo descremada, con semilla de algodón permitían criar normalmente las abejas, aunque la cantidad de crías era menor que en una colmena alimentada con polen natural.

HAYDAK (1967), probó 30 fuentes de proteína, unas solas y otras en combinación, evaluó emergencia de abejas, cambios en el peso seco, volumen de nitrógeno, mortalidad del adulto, condición de las crías, y la población de las colonias experimentales. Sobre la base de este estudio, recomienda usar la mezcla de harina de soya, levadura de cerveza seca, y leche en polvo desengrasada como el sustituto más adecuado después del polen.

Dentro de los sustitutos más interesantes del polen está la harina de soja, producto que rápidamente ha generalizado su empleo en la alimentación

del ganado de explotación intensiva, entrando en la composición de diversos preparados alimenticios humanos; podemos calificar a la soya como el alimento base de nuestra época (KULINCEVIC *et al.*, 1982).

2.4 Razones de utilizar los suplementos de harina de lupino y harina de soya.

A distintos investigadores, diferentes razones y finalidades los han llevado a experimentar el empleo de suplementos proteicos en abejas, ALMEIDA y BARBOSA (1982), estudiaron los efectos en la producción de miel de una suplementación proteica, el cual constó de cuatro tratamientos. Los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas, siendo la mezcla de azúcar y soya la que le dio mejores resultados, con un 70% de mayor producción que el tratamiento testigo, Figura 1.

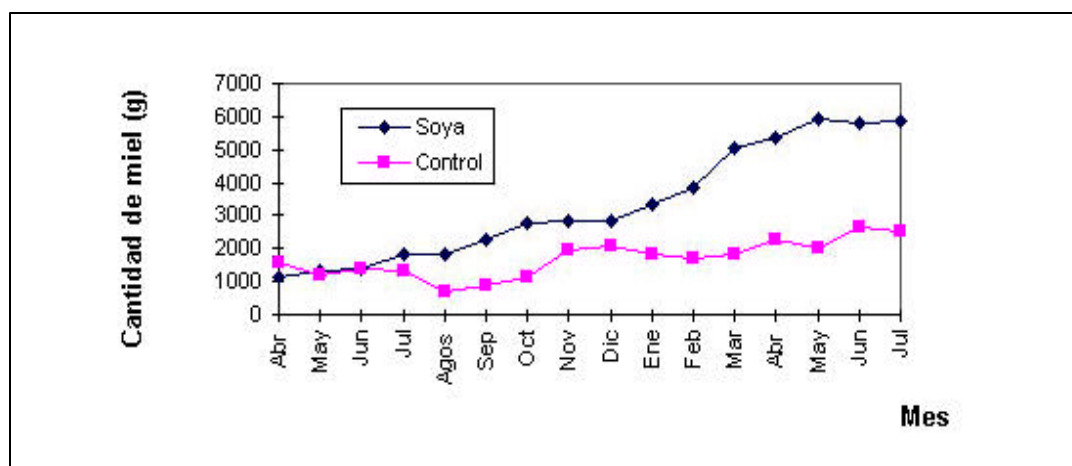


FIGURA 1 Producción de miel en colmenas suplementadas con proteína de soya, en relación a un testigo sin soya.

FUENTE : ALMEIDA y BARBOSA (1982). (modificado).

MUSA *et al.* (1989), con la finalidad de determinar la efectividad de algunas posibles dietas en el crecimiento de la colonia, compararon soya mezclada con leche descremada, melaza de caña de azúcar y harina de

palmera con una dieta control, cuya evaluación y medición se obtuvo del análisis de superficie o área de los panales ocupados con crías obreras (cuyo supuesto sostiene que a mayor área mayor número de crías), además registró la distancia recorrida por las abejas y la cantidad de néctar recogido (Figuras 2 y 3).

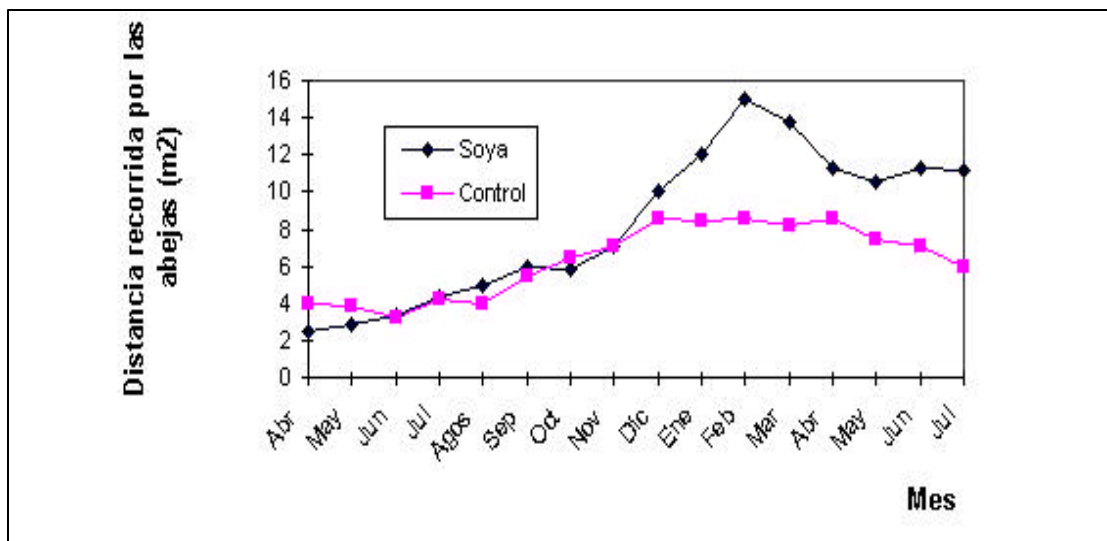


FIGURA 2 Distancia recorrida por las abejas alimentadas con una suplementación de soya, en comparación a un control. En m² según original.

FUENTE : MUSA *et al.* (1989).

STANDIFER *et al.* (1973), investigaron la influencia de la calidad proteica de algunos pólenes y de un sustituto del polen, cuyo principal componente fue harina de soya, con el propósito de determinar posibles efectos en el consumo, la mortalidad y el desarrollo morfológico de la glándula hipofaríngea en abejas recién nacidas. Los tratamientos con sustituto del polen con 10 y 5% de proteína y el polen de diente de león (*Taraxacum officinale*), fueron los que mostraron el mayor y mejor desarrollo morfológico de la glándula hipofaríngea. En cuanto al consumo, el sustituto del polen en base a soya se ubicó después del polen de diente de león, siendo éstos consumidos en forma

significativamente mayor sobre los otros 9 tratamientos utilizados. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la mortalidad de estos tratamientos.

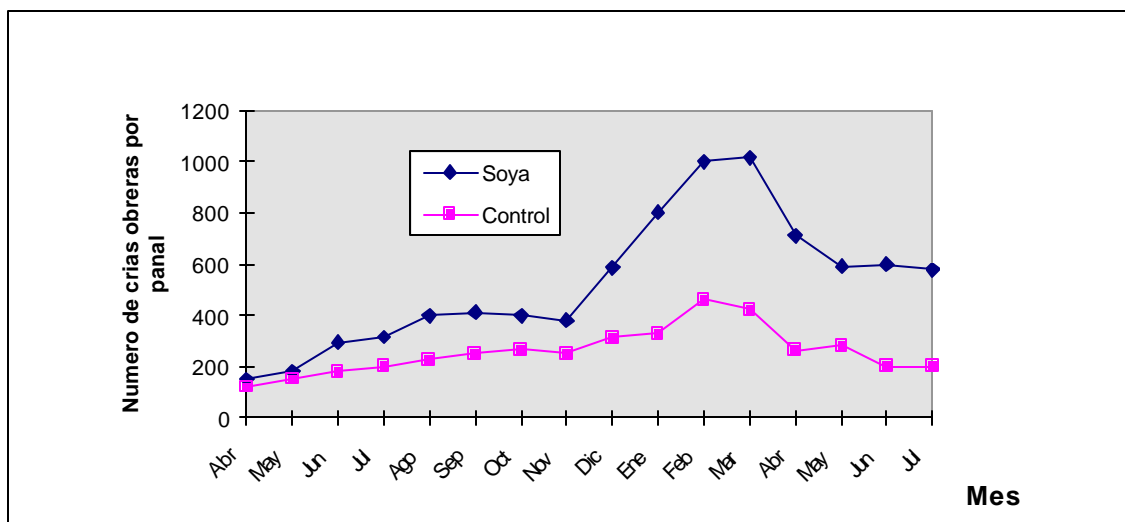


FIGURA 3 Cantidad de crías obreras, en colmenas alimentadas con sustituto proteico a base de soya, en relación a uno sin soya (Control).

FUENTE : MUSA *et al.* (1989).

2.5 Composición química de la soya y el lupino albo.

Las actuales variedades de lupino son comparables en muchos aspectos con el poroto soya. El contenido de proteína se sitúa en un porcentaje alrededor del 40 % para ambas leguminosas (Cuadro 2). El contenido de lípidos es en general menor en lupino que en soya: en promedio, equivale al 50% del porcentaje que contienen las variedades de soya. El lupino, además, posee una corteza más abundante que el poroto soya, lo que se refleja en los valores del análisis de la fibra cruda que se exponen en el Cuadro 2.

Las proteínas de soya y lupino pueden ser fraccionadas de acuerdo a sus propiedades de sedimentación, en componentes cuyo detalle aparece en el Cuadro 3. Las globulinas 7s y 11s representan en ambas especies porcentajes superiores al 75%. Sin, embargo, como lo ha señalado FUKUSHIMA (1980), su

contenido en cisteína es una de las características más sobresalientes, al desempeñar este aminoácido un rol importante en las propiedades de gelación a través de reacciones disulfuros inducidas por el calor, característica que toma relevancia al momento de elegir soya y lupino en la composición de un alimento sustituto.

CUADRO 2 Composición química de las semillas de soya y lupino.

Componente (%)	Soya (1)	Lupino (2)
Humedad	6-9	6-8
Proteínas	41.3	40.28
Extracto etéreo	28	12.5
Cenizas	4.6	3.8
Fibra cruda	5.1	2.1
Almidón (3)	0-47	0-35

FUENTE: (1) GEBRE-EGZIABHLER y SUMNER (1983).

(2) CARDENAS (1977).

(3) Determinado por polarimetría, SOSULSKI y YOUNG (1979).

Cuando se compara la composición química promedio de la soya y lupino con otras leguminosas tradicionales, es posible establecer al menos tres diferencias significativas:

a) En primer lugar, el contenido de proteína que poseen soya y lupino es un 60 % más alto que el que poseen en promedio las demás leguminosas.

b) El contenido de lípidos es significativamente mayor que el de leguminosas como arveja, haba y lenteja (1-2%) y solo el garbanzo se acerca al porcentaje que posee el lupino.

c) Una tercera diferencia, notable por tratarse de leguminosas, es el contenido de almidón: soya y lupino están prácticamente exentos de este polisacárido doble. Los valores informados en la literatura, indican porcentajes de 0,0 y 4,7 para la soya, cantidades máximas de un 3,5% en lupino, lo que puede ser considerado poco relevante frente al 50% más que poseen la mayoría de las leguminosas tradicionales. (SCHMIDT-HEBBEL y PENNACCHIOTTI, 1985).

CUADRO 3 Principales componentes proteicos de soya y lupino.

Componente	Contenido (%)	Peso molecular (x 10 ³)	Cisteína (N° x mol)
A) Soya (*)			
Globulina 2S	15.0	32	6
Globulina 7S	34.0	104-180	4
Globulina 11S	41.9	360	48
Globulina 15 S	9.1	-	0
B) Lupino (**)			
Globulina δ (2S)	12.5	44	2
Globulina β (7.4-7.8S)	44.2	173-181	0
Globulina α (11.6S)	33.2	336	~14
Globulina γ	6.0	92-330	2

FUENTE : (*) En soya, globulinas determinadas por ultracentrifugación, FUKUSHIMA (1980).

(**) En lupino, globulinas determinadas por método Folin en solución salina, DURANTI *et al.* (1981).

En la composición aminoacídica que aparece en el Cuadro 4, sólo se han considerado lisina y los aminoácidos azufrados metionina y cistina, por ser generalmente deficitarios en las proteínas de origen vegetal (GARCIA, 1975). Lisina se encuentra en cantidades superiores a los requerimientos normales

para una proteína de un buen valor biológico. Metionina, en cambio, es el primer aminoácido limitante, lo que constituye un hecho bastante común en la mayoría de las leguminosas (CERLETTI *et al.*, 1978).

CUADRO 4 Composición aminoacídica de semillas de soya y lupino.

Aminoácidos (g / 16g N)	Soya	Lupino	Patrón FAO
Isoleucina	5.7	3.6	4.0
Leucina	13.5	6.3	7.0
Lisina	6.8	3.9	5.5
Metionina+Cistina	1.7	1.5	3.5
Fenilalanina+Tirosina	5.5	8.0	6.0
Treonina	4.0	3.2	4.0
Triptofano	0.8	1.4	1.0
Valina	5.3	3.3	5.0

FUENTE : VON BAER (1986).

2.6 Azúcar en la dieta de *Apis mellifera* L.

Por importante que sean los problemas de suplementación en la alimentación proteica de las abejas, el de la alimentación glucídica sigue siendo el más importante entre las preocupaciones de los apicultores, indiferentemente se trate de alimentaciones suplementarias o estimulantes (CHHUNELA, 1992).

La sacarosa pura es de uso tradicional entre los apicultores, la cual ha sido empleada frecuentemente y hasta la fecha sin la competencia seria de ningún producto, debido a sus numerosas ventajas (WATANABE, 1993). LOUVEAUX (1978), sostiene que las abejas poseen enzimas para obtener de la sacarosa una mezcla rica en glucosa y fructosa, cuya composición se parece a la de la miel.

2.7 Mortalidad de las abejas en la invernada.

Las pérdidas resultantes de colonias débiles que sobreviven al invierno, exceden en mucho a las pérdidas de colonias normales. Las colonias débiles, con reinas en malas condiciones, insuficiencia de polen y miel y atacadas por las enfermedades, contribuyen a elevadas pérdidas de abejas en invierno, que algunas veces alcanzan de 50 a 75 %, aunque en realidad sólo un pequeño porcentaje de esas colonias puede extinguirse por completo (GOULD y GRANT, 1988).

En una colonia sana, la mortalidad rara vez excede el 15 % de la población, y la mayor parte de estas muertes parece ser causada por las abejas que no logran mantenerse dentro del racimo GRAHAM (1992). Sin embargo, HERBERT *et al.* (1983), sostienen que el hambre es la principal causa de las colonias que mueren durante el invierno, ella puede ser causada en forma directa por la escasez de alimentos, aunque también puede ser el resultado indirecto de otros factores, como la mala distribución de los alimentos dentro de la colmena, aunque éstos sean suficientes. Otra causa de mortalidad en las colonias, son las bajas temperaturas por lapsos prolongados a las que éstas son sometidas, factor que pasa a ser de gran importancia si además se trata de una colonia cuya población es muy reducida.

JOHANSSON (1978), postula que racimos pequeños de abejas son más susceptibles a problemas de pérdidas en la invernada, siendo las principales causas el exceso de humedad, temperaturas extremas y disentería, esta última causada por la acumulación excesiva de materia fecal en las colmenas.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del ensayo

El estudio se realizó en un colmenar localizado en el fundo Teja Norte, propiedad de la Universidad Austral de Chile, en la ciudad de Valdivia, comuna de Valdivia (latitud 39° 48' 8.02" S y longitud 73° 15' 39.75" W).

3.2 Material

El material biológico y no biológico utilizado en los ensayos se detalla a continuación.

3.2.1 Material biológico. El material biológico consistió en once colonias de *Apis mellifera L*, dispuestas en colmenas de tipo Langstroth.

3.2.2 Material apícola. El material consistió en once colmenas tipo Langstroth, que se caracterizaron por tener dos cámaras, la primera denominada cajón de cría (el inferior), la segunda llamada alza o mielario (el superior), a su vez cada alza tenía diez panales. Ahumador, traje apícola (velo, guantes, buzo), palanca Root, acículas de pino secas como combustible para el ahumador y envases de plástico de 300 cc con tapas para la recolección de muestras de abejas.

3.2.3 Suplementos alimenticios. Los alimentos utilizados en el experimento fueron analizados por el Laboratorio de Fitoquímica del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal de la Universidad Austral de Chile, por medio de un análisis proximal, a excepción del aporte calórico que fue efectuado según el método Atwater.

3.2.3.1 Harina de lupino. El material ocupado como harina de lupino poseía las siguientes características, materia seca 91,5 %, proteína total 39,8 %, lípidos

totales 10,3 %, carbohidratos 37,2 %, fibra cruda 0,89 %, vitaminas y minerales 3,28 %, alcaloides totales 0,04 %, aporte calórico 401 cal/100g muestra.

3.2.3.2 Harina de soya. Las características nutricionales de la harina de soya fueron las siguientes, proteína total 49,1 %, carbohidratos 27,4 %, grasa 1,46 %, vitaminas y minerales 6,93 %, humedad 6,1 %, calorías (*100 g) 319 (cálculo de aporte calórico según Atwater), este es un producto procesado por MI TIERRA MR y envasado el 13 mayo 1996.

3.2.3.3 Azúcar. El azúcar utilizado fue del tipo impalpable o también llamado azúcar flor, éste es un azúcar de doble tamiz grado 2, elaborado por IANSA.

3.2.3.4 Miel. La miel ocupada es la que se obtiene en el mercado como miel de primavera, envasada por la empresa COLUN, la cual es 100 % de abejas y de grado 2, el envase ocupado fue de 460 g en contenido neto.

3.2.4 **Otros materiales.** Para el desarrollo de la parte experimental se utilizaron los siguientes materiales y equipos.

3.2.4.1 Material de laboratorio. Incluyó una balanza de precisión analítica marca SARTORIUS para un peso máximo de 180 gramos con una precisión de 0,0001g, un destilador Microkjeldhal para nitrógeno marca LABCONCO, un extractor de extracto etéreo Soxhlet marca ELCTROTHERMAL, un digestor de proteínas Kjeldatherm marca GERHARDT, una manta calefactora para destilar éter de petróleo marca PILTZ de 500 W, una estufa Memmert hasta 120 °C, una bureta eléctrica marca BRAND, material de vidrio (matraces de 100 mL, vasos precipitados de 250 cc, pipetas, cápsulas de Petri), molidor Kurzzeitbetrieb, reactivos químicos (éter de petróleo, ácido sulfúrico concentrado, hidróxido de sodio 0.1N, catalizador de selenio, indicador de color, y otros), y treinta envases de plástico (11 de 300 cc y 19 de 30 cc).

3.2.4.2 Material de terreno. En terreno se utilizaron bolsas plásticas transparentes de 20 por 30 cm, lápiz, plumón, cinta adhesiva.

3.3 Metodología

A continuación se indica la metodología seguida en los ensayos.

3.3.1 Período experimental. El ensayo se realizó en la temporada de invierno y primavera, entre el 26 de junio y el 8 de noviembre de 1996, en colmenas ubicadas en el fundo Teja Norte, Isla Teja en Valdivia, abarcando un período total de aproximadamente 5 meses (150 días).

3.3.2 Diseño experimental. El diseño empleado fue completamente al azar con nueve tratamientos y con cuatro repeticiones para el caso del lupino y la soya, y tres repeticiones en el caso del testigo que en este caso fue el tratamiento con azúcar. Estos tratamientos se dispusieron en un arreglo factorial de 3 x 3, que equivalió a tres tipos de alimentos por tres muestreos.

3.3.3 Descripción de los tratamientos. En el ensayo los productos azúcar, lupino y soya fueron aplicados en los colmenares.

- Tratamiento 1) Colmenas alimentadas con una mezcla de lupino y azúcar (molido y homogeneizado) relación 1:1, la aplicación se efectuó en dos fases cada una de 100 gramos, por cada colmena.

- Tratamiento 2) Colmenas alimentadas con una mezcla de soya y azúcar (molido y homogeneizado) relación 1:1, la aplicación se realizó en dos fases cada una de 100 gramos, por cada colmena.

- Tratamiento 3) Tratamiento testigo, al cual solo se le proporcionó azúcar, en dos fases (períodos) cada una de 100 g por colmena.

A todos los tratamientos se les agregó miel, dos veces, como suplemento alimenticio, siendo la dosis de 250 g en cada una de los suministros.

3.3.4 Forma de aplicación de los tratamientos. El producto se entregó en sobres de papel aluminio de aproximadamente 15x15 cm abiertos por un lado, para permitir el ingreso de las abejas, los cuales fueron colocados sobre los cabezales de los panales, en las colmenas que integraron el ensayo.

3.3.4.1 Suministro de lupino. El lupino se proporcionó mezclado con azúcar molida (50% lupino y 50% azúcar) en una porción de 100 g de mezcla cada vez y en dos oportunidades, el primer suministro se realizó al inicio de la experimentación y el segundo a los 80 días.

3.3.4.2 Suministro de soya. La soya se entregó mezclada con azúcar molida (50% soya y 50% azúcar) en una porción de 100 g de mezcla cada vez y en dos oportunidades (las fechas fueron, 26 junio 1996 y el 16 septiembre 1996).

3.3.4.3 Suministro de azúcar. El azúcar se dio en forma impalpable (azúcar flor) en una porción de 100 g por cada vez y en dos fechas (Anexo1).

3.3.5 Condiciones del suministro. La aplicación de los tratamientos se realizó durante la tarde, entre las 15:00 y 17:30 horas.

3.3.6 Toma de muestras de suplemento alimenticio. Las muestras de terreno consistieron en retirar el remanente de los alimentos, es decir lo que las abejas no consumieron, guardándose en bolsas plásticas, esto es en el caso de las muestras de alimentos (Anexo 1).

3.3.7 Toma de muestras de abejas. Para el análisis posterior de las abejas se tomaron muestras en frascos de plástico de 300 cc de capacidad, los que se

llenaron hasta la mitad aproximadamente de abejas, las cuales se extrajeron desde los panales de la cámara de cría y se llevaron a un freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura, donde se les dio muerte por frío (Anexo 1).

3.3.8 Análisis de laboratorio de las muestras de abeja. Las muestras de abejas obtenidas en terreno consistieron en una cantidad aproximada de 200cc de volumen, en un frasco de plástico con abejas vivas, a las que se les hizo un análisis de materia seca, proteínas y lípidos. Previo al análisis de proteínas y lípidos, primero se secó y luego molió todo el material de abejas, el cual se guardó en frascos plásticos de 60 ml, bajo condiciones ambientales del laboratorio.

3.3.8.1 Análisis de materia seca. Utilizando el método de eliminación térmica de agua (SCHMIDT-HEBBEL,1966), se realizó el análisis de materia seca de las abejas, para lo cual se secó una placa Petri a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos la que después se puso en un desecador para bajar su temperatura, luego se pesó e identificó la placa, posteriormente se pesó la placa con una cantidad de abejas (aproximadamente un gramo para este caso), estas placas con abejas se pusieron a secar a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 horas, luego se pesaron las placas con las abejas secas, para el cálculo de materia seca se utilizó la formula 3.1.

$$\text{MS (\%)} = \frac{\text{Peso placas con abejas secas} - \text{Peso placas vacías} \times 100}{\text{Peso placas con abejas húmedas} - \text{Peso placas vacía}} \quad (3.1)$$

3.3.8.2 Análisis de proteínas. Para el análisis de proteínas (nitrógeno atribuible a proteína) de las abejas se usó el método descrito por SCHMIDT-HEBBEL (1984), (Figura 4). Para lo cual, se debió pesar 200 mg de muestra molida, la cual fue trasvasijada a un matraz Kjeldhal de 100 mL, también se agregó una punta de espátula de mezcla reactiva de selenio, como catalizador, junto con 3 ml de H_2SO_4 , éste se colocó a digerir por 2-3 horas bajo una campana

extractora, hasta obtener la destrucción total de la materia orgánica. Para la destilación, en un matraz Erlenmeyer de 125 ml se colocó 20 ml de H_2SO_4 0,1 N con dos gotas de indicador mixto N° 5 (Merck), luego se trasvasijó el contenido del matraz Kjeldhal que ya paso por el digestor, al destilador Micro-Kjeldhal, luego se agregaron 10 ml de NaOH al 45% a la copa del destilador, y se destiló hasta que llega aproximadamente a 100 ml del matraz Erlenmeyer , finalmente se retiró el matraz y se tituló con NaOH 0,1 N, hasta obtener un viraje del indicador (rosado a verde).

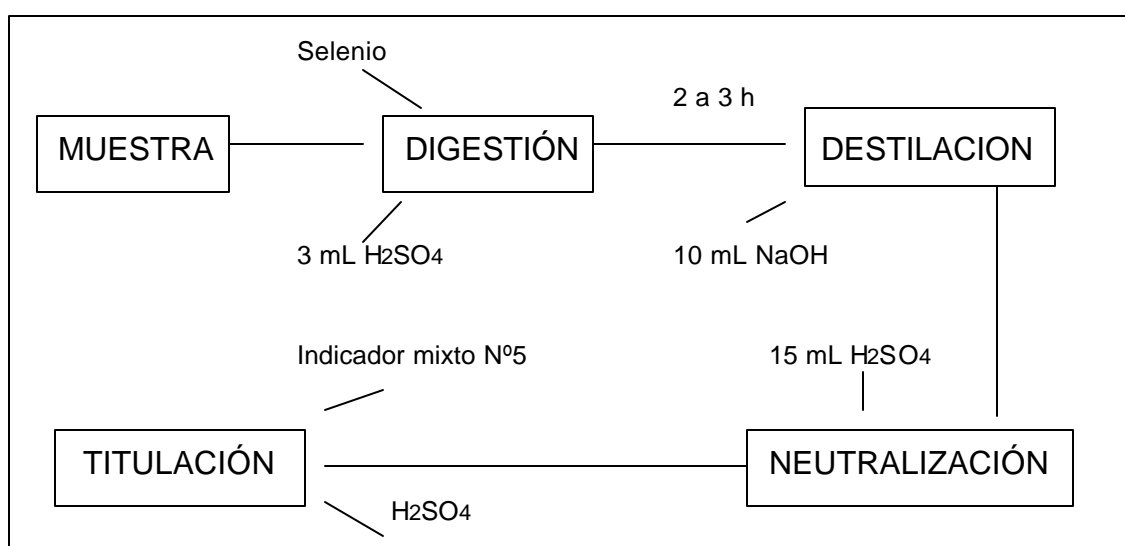


FIGURA 4. Diagrama del análisis de proteína, según SCHMIDT-HEBBEL (1984).

Para la obtención final del porcentaje de proteína (nitrógeno proteico) se usó la formula 3.2.

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{((20\text{ml} \times 0.1\text{N})H_2SO_4 - (\text{vol.} \times 0.1\text{N})NaOH)}{0.2 \times 1000} \times 6.25 \times 14 \times 100 \quad (3.2)$$

3.3.8.3 Análisis de lípidos. Para el análisis de extracto etéreo se usó el método de extracción de lípidos con éter de petróleo como solvente orgánico en un equipo Soxhlet, método descrito por BATEMAN (1970). Primeramente se formaron paquetes con 3 gramos de muestra de abejas, identificando cada uno de los paquetes (éstos son de papel filtro), y colocados dentro de los tubos extractores. Estos estuvieron conectados a un matraz (cuyo peso debía ser conocido) que contenía 60 ml de éter de petróleo el cual actuó como solvente extractor, luego este complejo formado por el tubo y el matraz se colocó en el equipo de extracción Soxhlet por 6 horas. Una vez culminada la extracción se destiló la muestra del matraz; que contiene el solvente y el extracto etéreo, mediante una manta calefactora de 500 W, quedando así los lípidos adheridos en las paredes del matraz. Para una mejor extracción del solvente (extracción más fina), se colocó el matraz en la estufa a 105 °C por 20 minutos, luego se puso en un desecador para que se enfriara y finalmente se pesó el matraz con los lípidos adheridos, y como ya se conocía el peso del matraz vacío, por simple regla de tres se calculó la cantidad de lípidos de la muestra. Para el cálculo del porcentaje de materia grasa se utilizó la ecuación 3.3.

$$X (\%) = \frac{\text{peso (g) de lípidos} \times 100}{3 \text{ g de muestra}} \quad (3.3)$$

3.3.8.4 Identificación de lípidos. La identificación de lípidos obtenidos en el análisis anterior, se realizó mediante una cromatografía de gases que identificó cuales eran los lípidos presentes y su cantidad. Este es un proceso mecánico-matemático hecho por una computadora que analiza una pequeña porción de la muestra de extracto etéreo, la cual determina los elementos de las muestras, midiendo el tiempo de liberación de los elementos, graficando estos tiempos en curva, para después medir mediante derivación, las áreas de las curvas bajo los

picos, posteriormente el computador por comparación con tablas bases o patrones, identificó los elementos de cada muestra.

3.3.9 Parámetros evaluados. Los principales parámetros evaluados en el desarrollo de esta tesis, que tuvieron como finalidad determinar los efectos de una suplementación proteica en las abejas fueron:

- El contenido de proteínas corporales en las abejas.
- El contenido de lípidos corporales en las abejas.
- El consumo de los suplementos proteicos, harina de soya y harina de lupino, por parte de *Apis mellifera L.*

3.3.10 Análisis estadístico de los datos. Los datos obtenidos fueron tabulados y analizados por medio de un análisis estadístico de varianza multifactorial DOUGLAS (1991), el cual responde a un arreglo factorial de tres por tres, que equivale a tres raciones suplementarias por tres épocas de muestreo, para lograr determinar el efecto de los tratamientos, con cada uno de los intervalos de tiempo considerados, para cada parámetro evaluado, posteriormente si existieron diferencias estadísticas, éstas se analizaron con la prueba de TUKEY, al 95%.

Todos los datos obtenidos fueron procesados con el programa estadístico computacional STATGRAPHICS PLUS.

4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

Para visualizar claramente cómo afecta una suplementación proteica basada en harina de soya y harina de lupino en *Apis mellifera L.*, a continuación se analizaran en forma separada los efectos de esta suplementación. Aquí se estudiaron los efectos que producen los alimentos en el nivel de proteína y de lípidos en las abejas, junto con un análisis por época de muestreo, para finalmente analizar lo consumido de cada tratamiento.

4.1 Efecto de los suplementos en *Apis mellifera L.*

El contenido de proteínas que poseían las abejas, fue determinado en forma indirecta por el método de nitrógeno atribuible a proteína.

4.1.1 **Nivel de proteína en la abeja.** El nivel proteico corporal, resultante de tratar con distintos alimentos sustitutos a las abejas, se presenta en el Cuadro 5 y la Figura 5.

CUADRO 5 Proteína corporal de las abejas, porcentaje promedio en cada uno de los tratamientos.

Testigo (*)	Soya	Lupino
42,13 a	48,32 a	46,86 a

(*). Letras distintas indican diferencias significativas (5% TUKEY).

Al realizar el análisis estadístico para los alimentos, no se presentaron diferencias significativas al 5% entre los tratamientos (Anexos 5 y 6). Al comparar este estudio con otros realizados con la misma finalidad y con métodos similares pero no idénticos, se encontraron resultados distintos, ya que

éstos obtuvieron un aumento estadísticamente significativo en el nivel proteico corporal. Según ROEDER (1953), existen atenuantes que harían variar los resultados de un estudio a otro, de las cuales destaca la población inicial, la latitud donde se realizó el estudio, la ubicación del colmenar y crudeza del invierno, otras variables que pudieran existir, las considera normales por lo que se deberán considerar como 'ceteris paribus'. Por otro lado cabe señalar que el tratamiento testigo reforzado con azúcar, posee una gran error estándar, debido a la pérdida de sus repeticiones quedando una sola colmena de este tratamiento, lo que afecta sin lugar a duda los resultados.

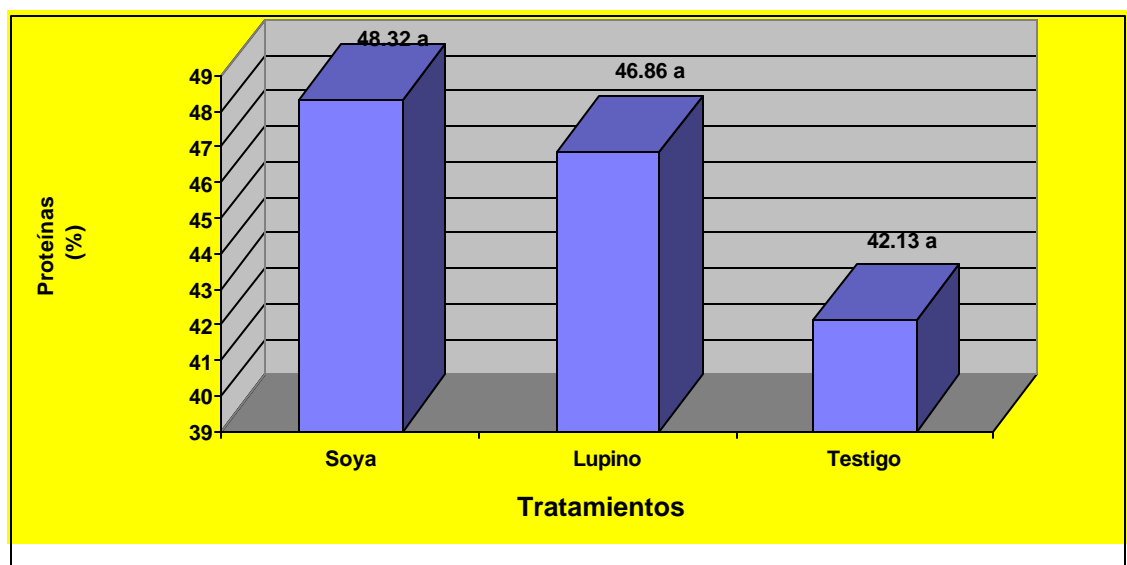


FIGURA 5 Nivel de proteína en las abejas, en cada tratamiento alimenticio.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

4.1.2 Nivel proteico en cada época de muestreo. Para comparar el nivel de proteína en las abejas, durante el período del ensayo, resulta mas ilustrativo conocer el contenido promedio de proteína corporal en las abejas, para cada fecha de muestreo, clarificando mejor la evolución de las proteínas corporales. Dichos resultados se presentan en el Cuadro 6 y se muestran en la Figura 6.

CUADRO 6 Proteína corporal de las abejas, porcentaje promedio en tres fechas de evaluación.

26 junio de 1996 (*) (%)	5 agosto de 1996 (%)	8 noviembre de 1996 (%)
45,58 a	43,31 a	48,23 a

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

A pesar de existir un 5% aproximadamente de diferencia en el nivel de proteínas de las abejas entre el 5 de agosto y el 8 de noviembre, ésta estadísticamente no fue significativa. Una diferencia de este nivel pudiera ser relevante puesto que CHAPMAN (1982), dice que biológicamente diferencias de más de cinco puntos porcentuales son de gran importancia, ya que las especies biológicas poseen rangos de variación en sus componentes químicos, por ejemplo es más obvio pensar que el nivel de proteína de una especie puede variar de 30-60 % que de 0-100 %. Sin embargo, es necesario recordar que la falta de significancia estadística esta dada por la gran variación en los datos que presentaban los tratamientos y no por la magnitud de la diferencia.

Estos resultados se contraponen en parte a los encontrados por VECCHI y SABATINI (1995), quienes señalaron que los valores de proteína contenidos en la hemolinfa de las abejas eran más altos al termino del otoño, en comparación con las épocas de primavera y verano. Este diferencia podría tener base en las condiciones de alta humedad y frío de invierno existentes en Valdivia.

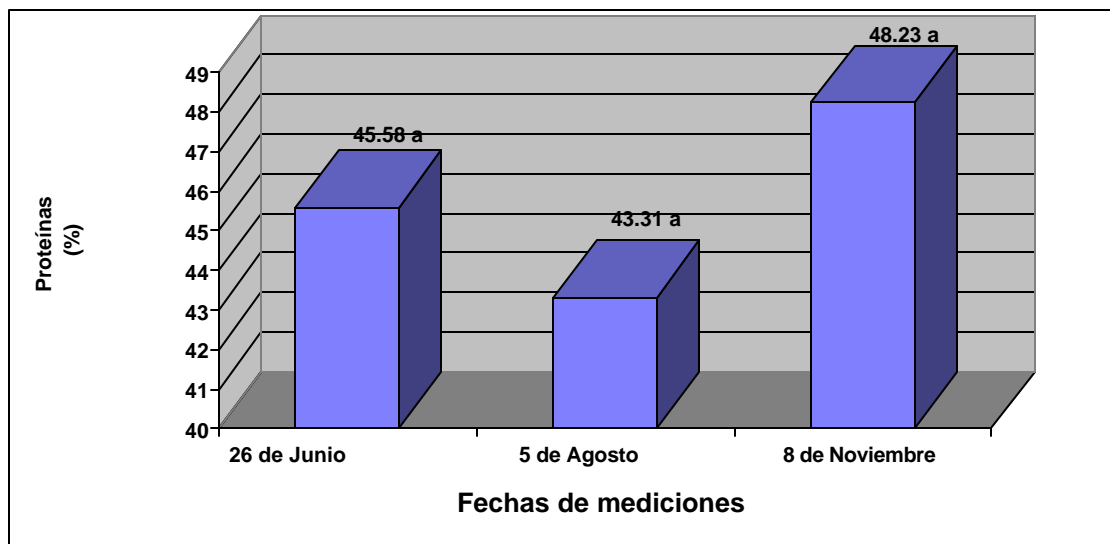


FIGURA 6 Nivel de proteína en las abejas, en porcentaje por fecha de muestreo.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

Para conocer como interactuaron la alimentación y las distintas fechas de muestreo de las abejas sometidas a los tratamientos, en el Cuadro 7 y en la Figura 7 se muestran los porcentajes promedios de proteína corporal en las abejas, al momento de iniciar las mediciones (26 jun.1996), en una etapa intermedia (5 ago.1996), el cual es el primer análisis en que las abejas ya estaban sometidas a los tratamientos, y al finalizar el estudio (8 nov.1996), con la finalidad de conocer la evolución de las abejas con los tratamientos.

CUADRO 7 Porcentaje de proteínas en *Apis mellifera* L., para los distintos tratamientos en cada muestreo.

Tratamientos(*)	Muestreo 1 (**)	Muestreo 2	Muestreo 3
Testigo	43,48 a	38,12 a	46,14 a
Soya	46,22 a	47,12 a	49,52 a
Lupino	47,03 a	44,70 a	49,02 a

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Condición Inicial

Se puede apreciar que en el tratamiento testigo, al igual que en el tratamiento con lupino, los niveles de proteína corporal de las abejas descienden en el segundo muestreo (hasta aquí han transcurrido 40 días de ser aplicado el tratamiento), esta caída va desde un 5% aproximadamente; para las abejas alimentadas con azúcar o tratamiento control, hasta un 3% aproximadamente para las tratadas con lupino. Esta baja del nivel de proteínas se explica en parte por el descenso natural que existe en esta época del año, al mayor uso de las reservas corporales por parte de las abejas, y además a la menor disponibilidad de alimentos (DONALD y ROBERTSON. 1976). Por otra parte, CRANE (1990), indica que también existe una pequeña baja del contenido de proteínas en el cuerpo de las abejas, debido al cambio alimenticio, aunque agrega que generalmente este cambio no es significativo.

Es importante destacar que en el tratamiento con soya, no se produce esta baja en el nivel proteico. Al respecto por la información recolectada se deduce que la soya es el suplemento proteico que posee mayor y más rápida adaptabilidad por parte de las abejas, siendo además su calidad proteica favorable en su utilización como sustituto del polen.

Estos mismos planteamientos pueden ser aplicados a este estudio, ya que se observa una constante tendencia al aumento del nivel proteico en el tratamiento con soya, y una baja en lupino y el testigo, que finalmente suben su nivel en el tercer muestreo (Figura 7).

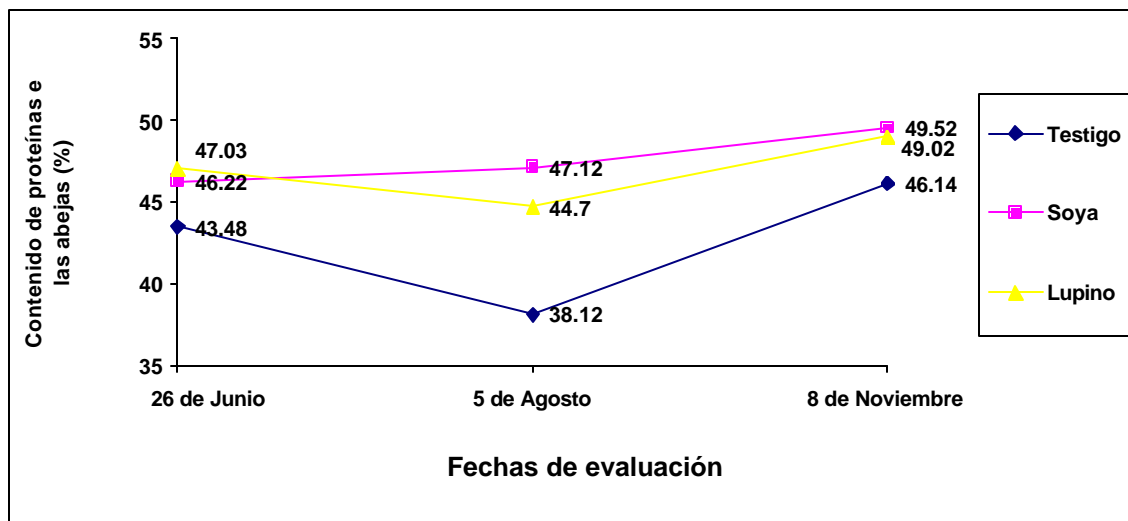


FIGURA 7 Nivel proteico de las abejas, en los distintos tratamientos y fechas de evaluación.

La reducción en el número de repeticiones, resultado de la muerte de algunos colmenares, explicaría en parte el alto error estándar resultante del análisis estadístico, haciendo que el rango de variación de cada tratamiento sea mayor. Sin embargo, además podrían haber otros factores no controlados que sin lugar a duda afectan los resultados estadísticos, exigiéndose que las diferencias entre los tratamientos sean más marcadas para que sean estadísticamente diferentes (DOUGLAS, 1991). La reducción en el número de repeticiones, principalmente en el tratamiento testigo, el cual quedó con tan sólo una repetición, se debió a la mortalidad registrada de algunas colonias, que probablemente fueron consecuencia de las inclemencias del invierno y a la escasez de alimento en los colmenares (HERBERT *et al.*, 1983).

Esta gran variación del error estándar se repite para todos los análisis estadísticos del ensayo.

4.1.3 Nivel de lípidos en *Apis mellifera* L. El nivel lipídico corporal, resultante de tratar con distintos alimentos sustitutos a las abejas, se presenta en el

Cuadro 8 y la Figura 8, mostrando una gran variación. Sin embargo, al analizar estadísticamente los datos, no existen diferencias significativas entre los tratamientos alimenticios respecto a la cantidad de lípidos en las abejas (Anexo 8).

CUADRO 8 Porcentaje de lípidos corporales en las abejas, para cada tratamiento, al terminar el ensayo.

Testigo (*)	Soya	Lupino
3,46 a	5,20 a	5,76 a

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

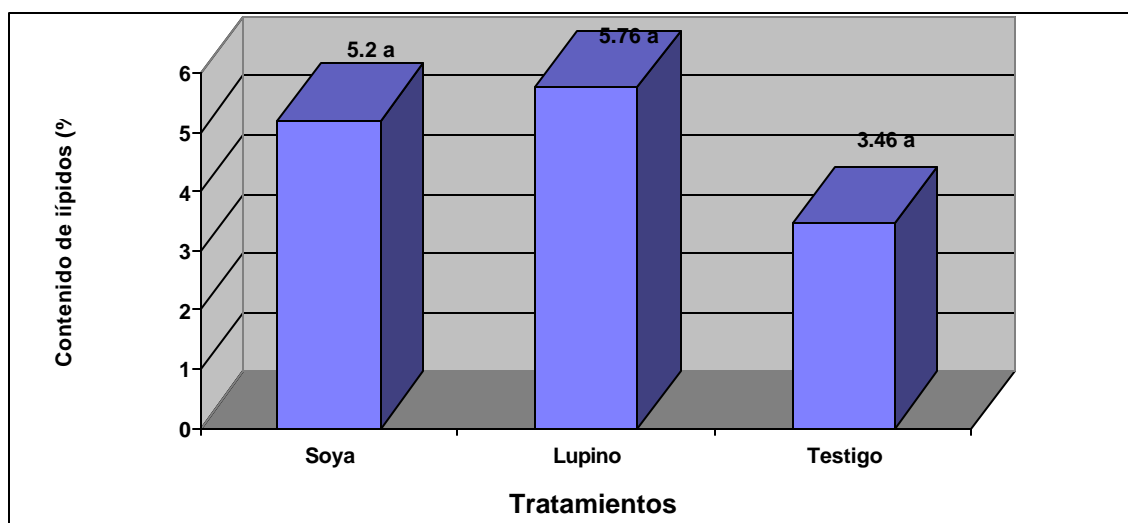


FIGURA 8 Contenido de lípidos en las abejas, porcentaje para cada tratamiento, al terminar el ensayo.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

MACICKA (1987), encontró otros resultados e indica que el uso de alimentos proteicos favorece una mayor deposición de grasa y un mayor tejido adiposo.

SHIMANUKI y HERBERT (1986), en un estudio similar pero con distintos alimentos, acotan, que en la mayoría de los insectos el nivel de ácidos grasos esta más relacionado con la alimentación que con la genética misma de éstos. SZYMAS (1994), encontró que colonias alimentadas con una mezcla con soya, tenían un mayor desarrollo del tejido graso.

Sin embargo, hay que destacar que la conclusión está basada en normas estrictamente científicas, la cual contempla para este ensayo un $F = 0,05$, valor límite que indica si existe o no diferencias significativas, valor que a la vez indica el cumplimiento de un 95% de certeza, es decir, si se repite este ensayo, existe un 95% de probabilidad que estos resultados sean los mismos, por lo tanto, no existirían diferencias significativas, este límite no admite flexibilidad. Sin embargo, el valor de F resultante para este ensayo fue 0,055, muy al límite del valor mínimo requerido para que existan diferencias significativas, en el contenido de lípidos de las abejas para cada tratamiento.

Finalmente en este ensayo la conclusión, es que no existen diferencias estadísticamente significativas, en el contenido de lípidos en las abejas, para los distintos tratamientos alimenticios.

4.1.4 Nivel de lípidos en cada toma de muestras. Al evaluar el nivel lipídico que presentaron las abejas en sus distintas épocas de muestreo (Cuadro 9), no se observan cambios, desde que comienza el ensayo el 5 de agosto hasta el término del ensayo (Anexo 9 y Figura 9).

Según CHAPMAN (1982), cuando existe un invierno difícil para las colmenas, es de esperar, que estas rápidamente utilicen sus alimentos de reserva, y cuando el alimento no es suficiente, no les quedará otra solución que ocupar sus reservas corporales, siendo los lípidos los primeros en ser afectados. Por tal razón cuando a las colmenas se les entrega una alimentación

sustituta o suplementaria, éstas poco a poco recobrarán su nivel de lípidos corporales, con lo cual las pérdidas de abejas por inanición serán cada vez menores.

CUADRO 9 Porcentaje de lípidos corporales en las abejas, en tres fechas de evaluación.

26 junio de 1996 (*) (%)	5 agosto de 1996 (%)	8 noviembre de 1996 (%)
4,31 a	4,81 a	5,29 a

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

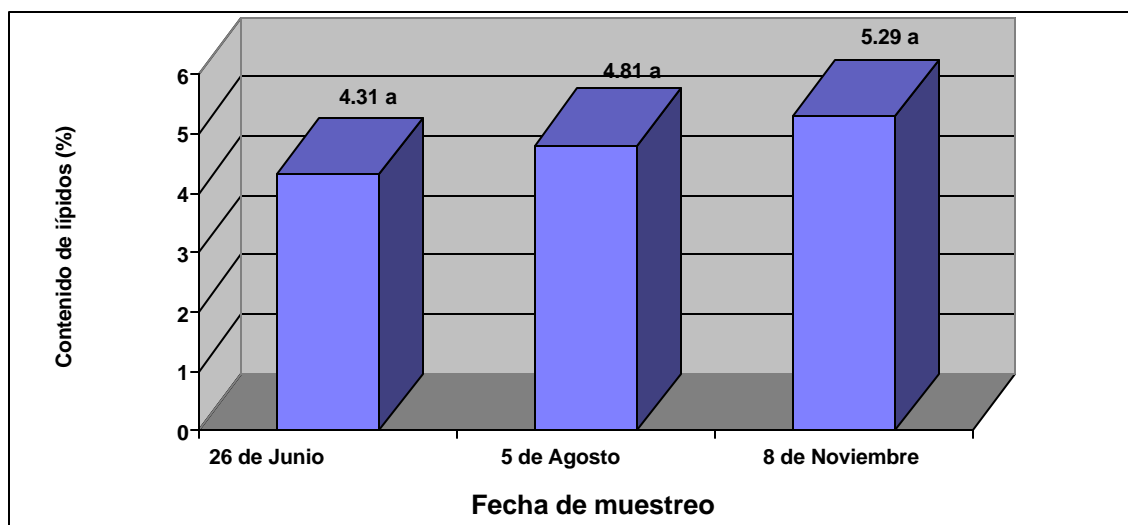


FIGURA 9 Contenido de lípidos en las abejas, porcentaje para cada muestreo.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

El Cuadro 10 y la Figura 10, muestran las interacciones entre la alimentación y las épocas de muestreo, y se puede observar, que los tratamientos con sus diversas interacciones presentaron una condición lipídica corporal sin cambios al finalizar el ensayo. Gontarski (1954), citado por DIETZ (1975), encontró que las abejas alimentadas solamente con jarabe de azúcar,

mostraban un desarrollo considerable de los cuerpos grasos, lo cual no concuerda con los resultados obtenidos. Según SHUEL y DIXON (1986), si se considera la fecha del segundo muestreo, 5 de agosto de 1996, esta debió presentar una disminución del nivel de lípidos del tratamiento testigo al menos. Ya que en este periodo, las abejas aumentan el consumo de las reservas lipídicas, con la finalidad de ocuparlas como fuente de energía para producir calor, lo cual tiene mayor importancia si las condiciones climáticas son adversas. Esta teoría se reafirma más aun si no existen alimentos disponibles, de los cuales las abejas pudiesen obtener estos recursos lipídicos, más aun, si las reservas corporales no son suficientes.

CUADRO 10 Porcentaje de lípidos en *Apis mellifera* L., para los distintos tratamientos en cada muestreo.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)
Soya	4,79 a	4,92 a	5,90 a
Lupino	4,58 a	6,52 a	6,19 a
Testigo	3,61 a	3,00 a	3,76 a

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

Lo anteriormente señalado, concuerda con las condiciones climáticas en las que se encontraban las colmenas en este ensayo, al momento del primer muestreo, ver Anexo 7. Cabe señalar, que este mismo tratamiento en el segundo muestreo presentó un aumento del nivel lipídico, quedando levemente sobre su condición original al comenzar el estudio, en contraste con el primer muestreo. Para la tercera fecha, septiembre, octubre y principios de noviembre, el mantenimiento de la temperatura dentro de la colmena, ya no es de importancia, debido a las mejores condiciones climáticas, al aproximarse la primavera.

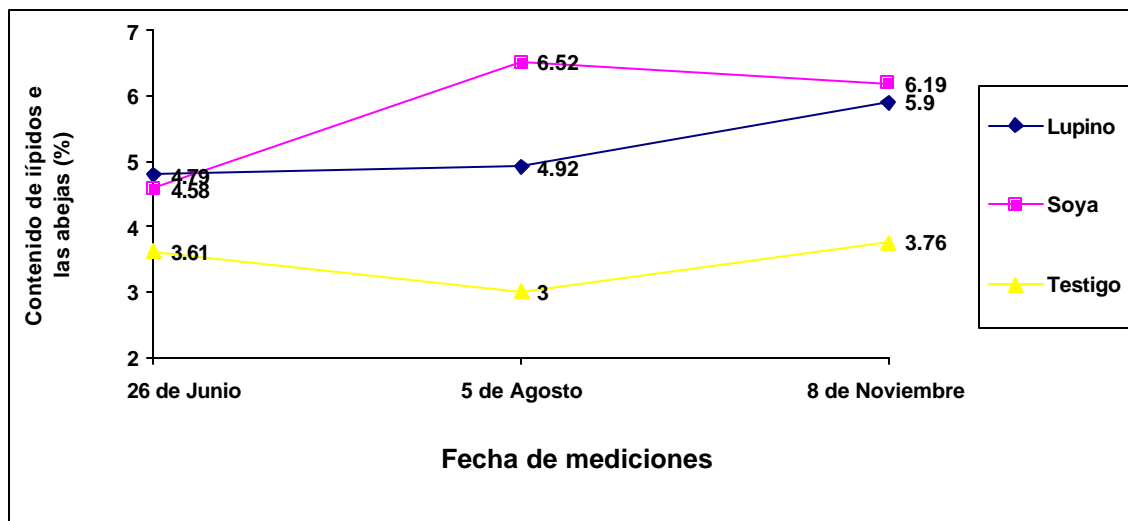


FIGURA 10 Nivel porcentual de lípidos en las abejas, en los distintos tratamientos.

Con los tratamientos suplementarios no ocurrió esta caída en el nivel lipídico corporal, la razón puede ser precisamente el suministro de alimentos, los cuales pudieron ser utilizados por las abejas para abastecerse de lípidos y otros compuestos energéticos, y así no ocupar las reservas corporales.

4.2 Composición y evaluación de los lípidos corporales en las abejas.

Se analizó la composición de las grasas o lípidos, las que permitieron determinar los niveles de éstos en el cuerpo de las abejas. La evaluación se basó en los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, ya que éstos reflejan la distribución estructural de los lípidos en las abejas. Además con el objetivo de evaluar los alimentos suministrados en su función de sustitutos del polen, se analizaron los ácidos linoleico (C 18:2) y linolénico (C 18:3) por ser ácidos grasos esenciales, y los ácidos eicosatrienoico (C 20:3) y araquídico (C 20:4) por ser indicadores de deficiencia de lípidos.

En el Cuadro 11, se presentan todos los ácidos grasos y sus porcentajes promedio presentes en el cuerpo de las abejas durante el ensayo.

CUADRO 11 Ácidos grasos de mayor contenido en el cuerpo de las abejas sometidas a ensayo.

ACIDOS GRASOS SATURADOS (%)			
Nombre	Al iniciar el ensayo 26 de junio	5 de agosto	8 de noviembre
Mirístico	0,82	0,95	0,77
Palmitico	9,20	7,88	6,30
Estearico	4,31	4,42	6,17
Araquídico	5,50	5,44	6,58
Behérico	10,00	5,97	6,61
Lignocérico	5,83	4,15	4,83
Cerótico	1,61	5,90	8,16
ACIDOS GRASOS MONOISATURADOS (%)			
Palmitoleico	2,76	2,54	2,37
Oleico	22,83	15,77	14,87
Eicosaenoico	2,14	2,07	2,78
Erucico	4,39	2,94	3,55
Nervónico	3,66	6,39	8,59
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (%)			
Linoleico	5,49	4,58	4,54
Linolénico	4,60	4,80	4,22
Eicosatrienoico	5,98	2,32	1,44
Araquidónico	1,54	2,71	1,50

4.2.1 Ácidos grasos saturados. Para el caso de los ácidos grasos saturados totales, contenidos en el cuerpo de las abejas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, entre los tratamientos y durante las distintas fechas de muestreo tampoco hubo diferencias (Anexo 10).

En el Cuadro 12 es posible distinguir los porcentajes de ácidos grasos saturados, promedios de los tres tratamientos, y en las distintas fechas de evaluación.

CUADRO 12 Porcentaje de ácidos grasos saturados en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en los distintos tiempos de evaluación.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)
Soya	38,62 a	33,74 a	40,61 a
Lupino	36,75 a	37,48 a	39,74 a
Testigo	36,29 a	31,60 a	33,28 a
Promedio	37,30 a	34,27 a	37,88 a

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Condición Inicial.

En los ácidos grasos saturados no se presentaron interacciones entre los tratamientos alimenticios y las distintas épocas de suministro de los alimentos, es decir, no existió alguna relación entre los alimentos y las épocas de muestreo de las abejas en el período del ensayo (del 26 de junio al 11 noviembre).

La Figura 11, muestra el contenido de ácidos grasos saturados, en el cuerpo de las abejas, por cada tratamiento.

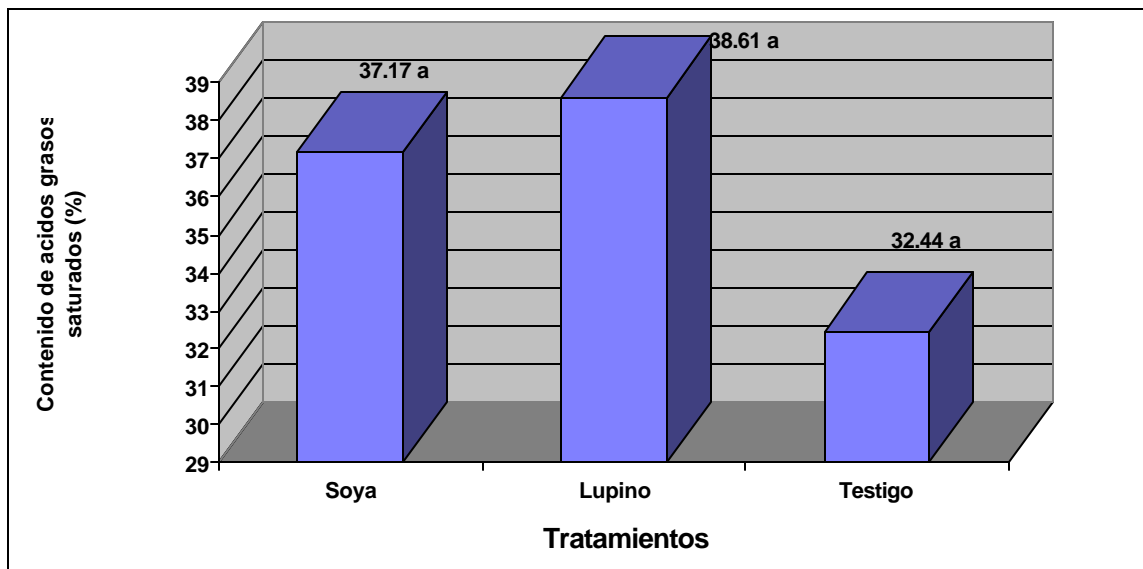


FIGURA 11 Contenido de ácidos grasos saturados, en el cuerpo de las abejas en cada tratamiento.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

4.2.2 Ácidos grasos monoinsaturados. En los ácidos grasos monoinsaturados totales, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, entre los tratamientos y tampoco en las distintas fechas de evaluación (Anexo 11). En el Cuadro 13 y la Figura 12, se pueden ver los contenidos de ácidos grasos monoinsaturados corporales que contenían las abejas en los distintos tratamientos, durante el período del ensayo.

Como se puede observar en el tratamiento con soya, el contenido porcentual de ácidos grasos monoinsaturados una vez iniciado el ensayo, tiende a bajar para mantenerse relativamente estable durante el período evaluado, este comportamiento no se presentó en los otros tratamientos, los cuales presentaron mayores variaciones llegando a más de nueve puntos porcentuales de diferencia entre el tratamiento con soya y el tratamiento testigo, pero que estadísticamente no fueron significativas. Por lo tanto, sólo se puede aseverar que la cantidad promedio de ácidos monoinsaturados en el cuerpo de

las abejas, fue de un 32% aproximadamente durante el ensayo. Los tratamientos con lupino y soya tampoco alteraron la composición de ácidos grasos monoinsaturados en el cuerpo de las abejas.

CUADRO 13 Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en los distintos tiempos de evaluación.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)	Promedio
Soya	37,26 a	29,25 a	26,41 a	27,83 a
Lupino	33,72 a	28,52 a	36,04 a	32,28 a
Testigo	37,36 a	34,04 a	39,94 a	36,99 a
Promedio	35,80 a	30,60 a	34,13 a	32,37

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Condición Inicial.

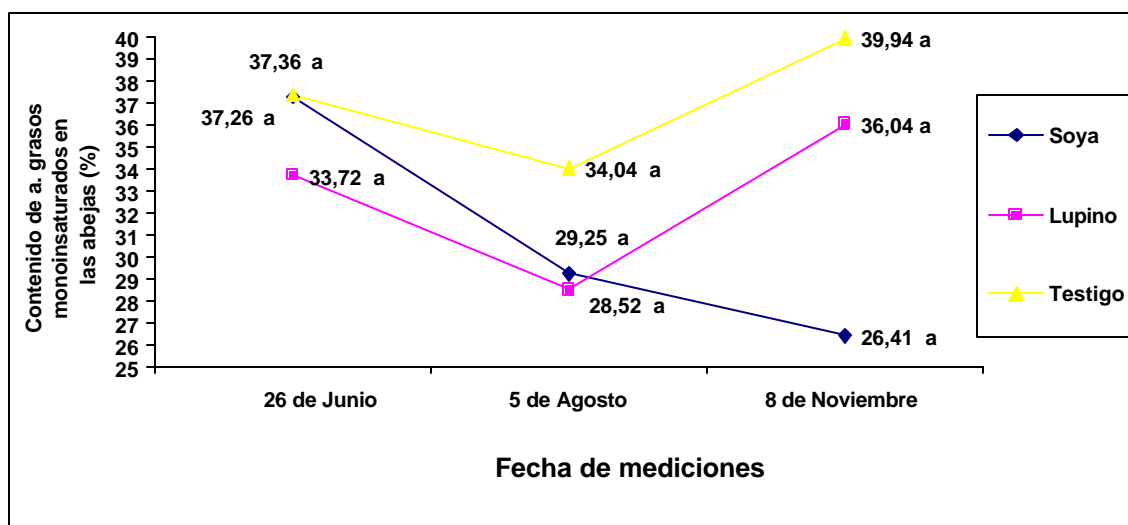


FIGURA 12 Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados, en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

4.2.3 **Ácidos grasos poliinsaturados.** Los ácidos grasos poliinsaturados totales, no presentaron diferencias estadísticamente significativas, entre los tratamientos y tampoco en las distintas fechas de evaluación (Anexo 12).

CUADRO 14 Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en distintos tiempos de evaluación.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)	Promedio
Soya	15,19	13,29	10,65	11,97 a
Lupino	16,63	13,47	12,25	12,86 a
Testigo	16,56	14,96	14,06	14,51 a
Promedio	17,62 a	13,91 a	12,32 a	13,11

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Condición Inicial.

En el Cuadro 14 y la Figura 13, se pueden ver los valores de los ácidos grasos monoinsaturados durante el período del ensayo.

A pesar de existir una clara tendencia a la disminución durante el período evaluado, ésta no alcanza a ser suficiente para que sea estadísticamente significativa. En cuanto a los tratamientos, el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, fue muy parecido en todos ellos, los cuales presentaron en promedio un 13,11%.

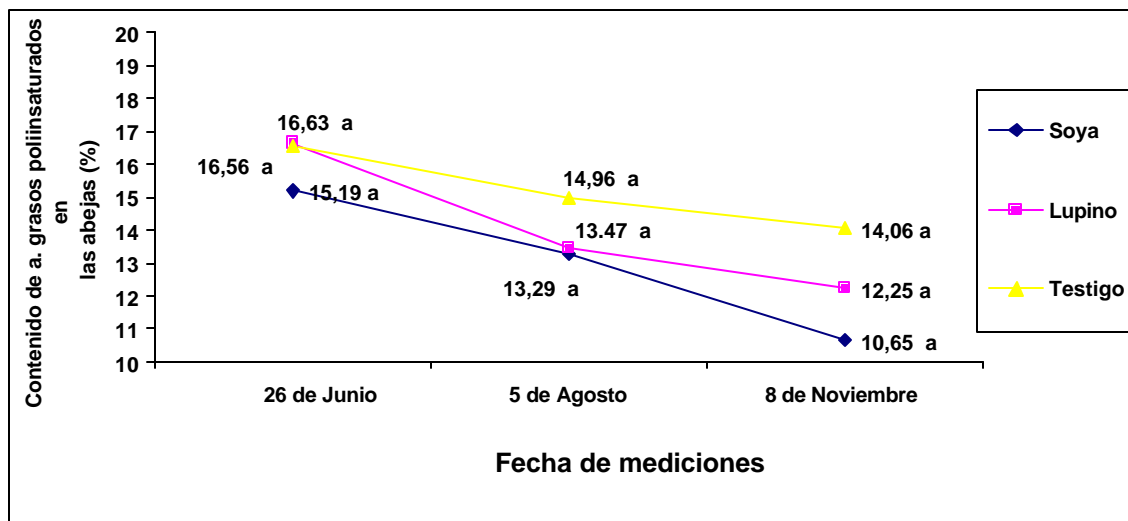


FIGURA 13 Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

HODGES (1985), señala que la relación ácidos grasos poliinsaturados ácidos grasos totales es un buen indicador de aporte lipídico, y agrega que mientras menor sea la relación de ácidos grasos poliinsaturados respecto a los demás en el cuerpo de las abejas, mejor es el aporte de lípidos del alimento sustituto. Esto indica que la alimentación suministrada a las abejas cumplió con el mejoramiento del aporte de lípidos necesarios para el desarrollo de éstas. Como este autor no señala cual debería ser esta relación, no se puede concluir con certeza que los alimentos suministrados mejoraron el aporte de lípidos. Sin embargo, sí se puede concluir que los alimentos suministrados, presentan buenas características en cuanto al aporte de lípidos, ya que el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, permaneció estadísticamente sin variación durante el período del ensayo, conservando las abejas el porcentaje promedio de estos ácidos grasos que poseían, antes de iniciar el suministro de los tratamientos.

Con la finalidad de dejar un registro, que pudiera servir a otro ensayo, en el Cuadro 15 están los valores que resultan de la relación poliinsaturados y ácidos grasos totales (incluye poliinsaturados), y además la relación entre los poliinsaturados y el resto de los ácidos grasos (saturados, monoinsaturados).

CUADRO 15 Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados y ácidos grasos totales, y entre los poliinsaturados y demás ácidos grasos.

Relación	Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)
Poliinsaturados / Acidos grasos totales	Soya	0,17	0,16	0,13
	Lupino	0,19	0,13	0,12
	Testigo	0,18	0,18	0,15
	Promedio	0,19	0,18	0,14
Poliinsaturados / (Saturados + Monoinsaturados)	Soya	0,22	0,20	0,15
	Lupino	0,24	0,15	0,12
	Testigo	0,22	0,21	0,17
	Promedio	0,23	0,22	0,16

(*). Los ácidos grasos totales que se consideraron están en el Anexo 13.

(**). Al Iniciar el ensayo.

Los valores de ambas relaciones presentaron una leve disminución durante el periodo que duro el ensayo, lo cual podría indicar que los suplementos de harina de soya y harina de lupino, influyeron en alguna medida en el contenido y composición de los ácidos grasos en el cuerpo de las abejas. Sin embargo, al no poseer valores de referencia, no se puede asegurar que estas diferencias de 0,05 y 0,08 de la primera y segunda relación respectivamente, sean de importancia.

4.2.4 **Ácido linoleico.** Corresponde a un ácido graso esencial del grupo de los poliinsaturados de la serie C 18:2. En el Cuadro 16, se aprecian los porcentajes presentes dentro del cuerpo de las abejas, a través de distintas fechas de evaluación para cada tratamiento.

CUADRO 16 Contenido porcentual de ácido linoleico en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en las distintas fechas de evaluación.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)	Promedio
Soya	5,14	5,33	4,91	5,12 a
Lupino	5,37	4,00	4,19	4,09 a
Testigo	6,15	4,14	5,5	4,82 a
Promedio	5,49 a	4,49 a	4,86 a	4,68

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Al Iniciar el ensayo.

Tanto para los alimentos como para las distintas fechas de evaluación de éstos, no existen diferencias significativas, ver Anexo 14.

Una forma de analizar el aporte de ácido linoleico en la dieta, es observar las cantidades de ácido eicosatrienoico, el cual aumenta cuando existe un déficit de ácido linoleico, esto ocurre por la transformación de ácido oleico en ácido eicosatrienoico (HOLMAN, 1970). Para clarificar de mejor manera el aporte de ácidos grasos esenciales mas adelante se analiza el ácido eicosatrienoico.

En la Figura 14, se observan los porcentajes de ácido linoleico en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo.

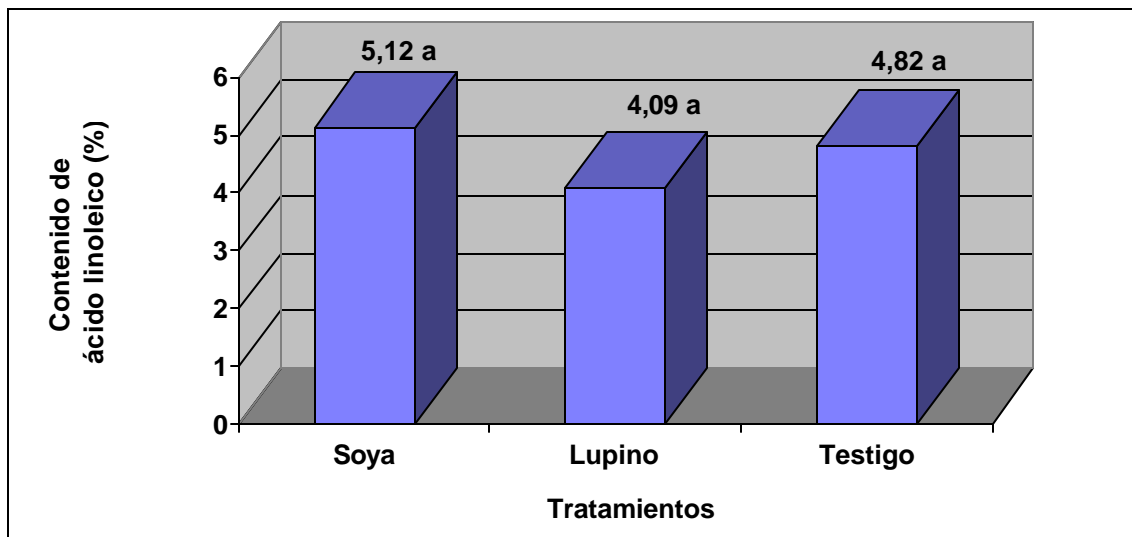


FIGURA 14 Contenido de ácido linoleico en el cuerpo de las abejas, durante el período del ensayo, expresado en porcentaje.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

4.2.5 Acido linolénico. Acido graso esencial del grupo de los poliinsaturados de la serie C 18:3. En el Cuadro 17, se aprecian los porcentajes presentes dentro del cuerpo de las abejas, a través de distintas fechas de evaluación, para cada tratamiento.

CUADRO 17 Contenido porcentual de ácido linolénico en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en los distintos tiempos de evaluación.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)	Promedio
Soya	4,13	4,56	3,60	4,08 a
Lupino	5,07	4,10	4,60	4,35 a
Testigo	4,63	6,58	4,85	5,71 a
Promedio	4,60 a	5,08 a	4,35 a	4,72

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Al Iniciar el ensayo.

Tanto para los tratamientos alimenticios como para las distintas fechas de evaluación, no existen diferencias significativas, ver Anexo 15.

En la Figura 15, se observan los porcentajes de ácido linolénico en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo.

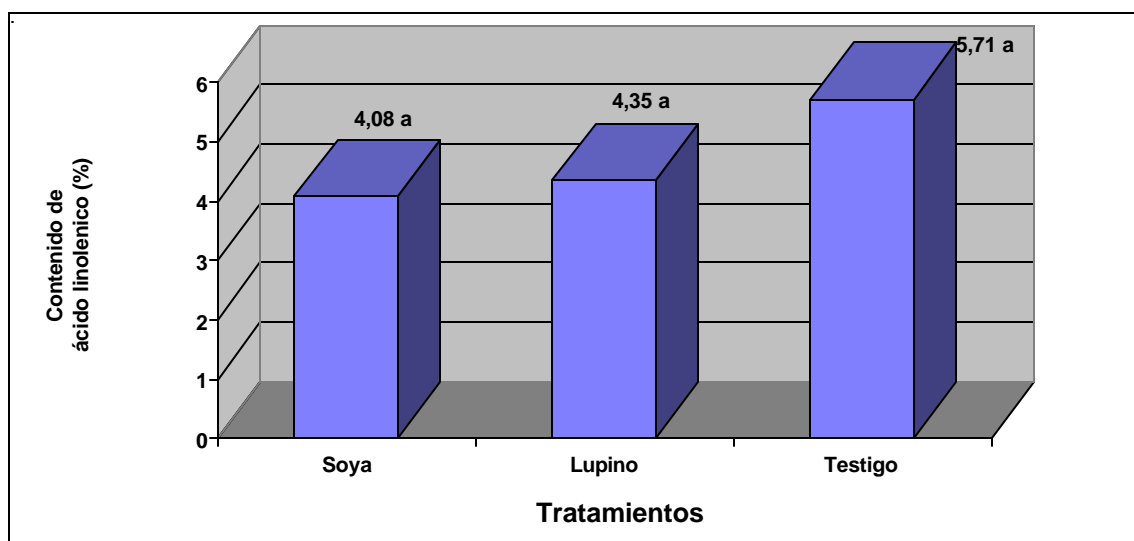


FIGURA 15 Contenido de ácido linolénico en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo, expresado en porcentaje.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

Se puede decir, que los alimentos suministrados, harina de lupino y harina de soya, proporcionan un buen aporte de ácido linolénico. Ya que, al analizar los porcentajes de ácido linolénico en las abejas durante el período de evaluación, este se mantiene, por lo cual se estima que éstas estaban con un nivel adecuado de este ácido al iniciar el ensayo, y que lo mantuvieron durante éste. Por otro lado, se puede afirmar que la cantidad de ácido linolénico no fue deficitario en las dietas, lo cual se concluye, del análisis de los ácidos araquídico y eicosatrienoico que son indicadores de deficiencia, no presentando éstos algún cambio que así lo indique.

En conclusión los alimentos suministrados, harina de lupino y harina de soya presentan un buen aporte de ácido linolénico.

4.2.6 Acido eicosatrienoico. Es un ácido graso del grupo de los poliinsaturados de la serie C 20:3, éste ácido graso ha sido señalado por algunos autores como indicador de deficiencias de ácidos grasos esenciales. En el Cuadro 18, se aprecian los porcentajes presentes dentro del cuerpo de las abejas, a través de distintas fechas de evaluación, para cada tratamiento.

Para los distintos tratamientos, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Es decir, a nivel corporal las abejas alimentadas con soya como las alimentadas con lupino, presentaron los mismos porcentajes de ácido eicosatrienoico que las abejas testigo, recibiendo estas últimas sólo suministro de azúcar. Por otra parte, si existieron diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de ácido eicosatrienoico y los demás ácidos grasos corporales, en las distintas fechas de evaluación de éstos tratamientos, presentando las abejas su menor contenido de ácido eicosatrienoico, en el último muestreo de este ensayo, ver Anexo 16.

CUADRO 18 Porcentaje de ácido eicosatrienoico, para cada tratamiento en las distintas fechas de evaluación de las abejas.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 julio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)	Promedio
Soya	5,97	2,65	1,76	2,20 a
Lupino	6,19	2,05	1,01	1,53 a
Testigo	5,79	2,44	1,65	2,05 a
Promedio	5,98 a	2,38 b	1,47 c	1,93

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Al Iniciar el ensayo.

Al evaluar el contenido de ácido eicosatrienoico presente en las abejas, en las distintas fechas de muestreo, se observa una disminución de 37.94% entre el 5 de agosto y el 8 de noviembre. Lo cual indicaría, un mayor aporte de ácido linoleico en la dieta de las abejas, mejorando la condición corporal que éstas presentaban al momento de iniciar el ensayo. Ya que este ácido es de gran importancia para el normal desarrollo de las abejas (HOLMAN 1970).

En la Figura 16, se observan los porcentajes de ácido eicosatrienoico en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo.

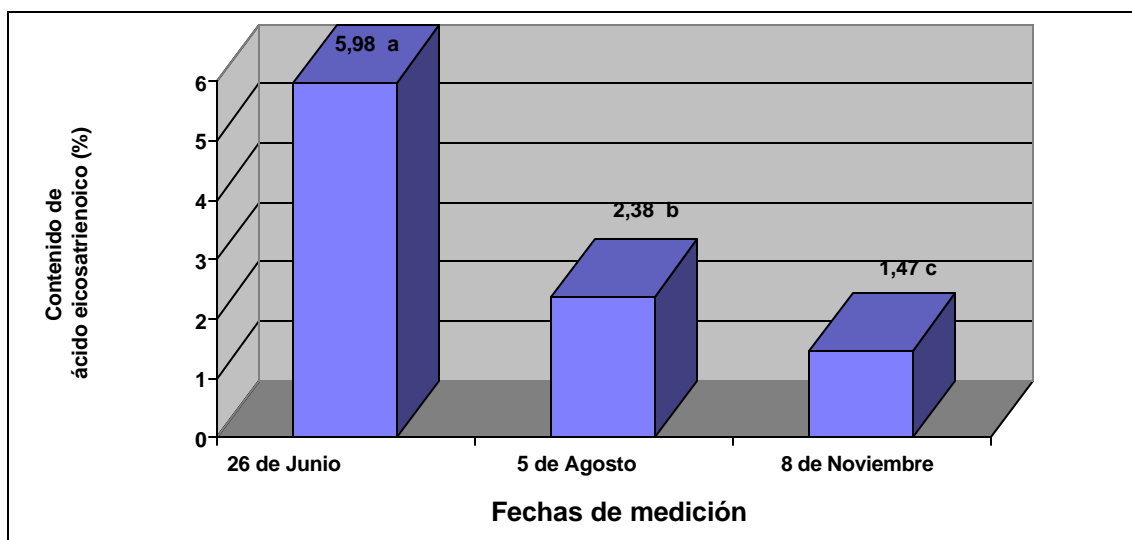


FIGURA 16 Contenido de ácido eicosatrienoico, en el cuerpo de las abejas, porcentaje durante el período del ensayo.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

4.2.7 Acido araquídico. Corresponde a un ácido graso del grupo de los poliinsaturados de la serie C 20:4. En el Cuadro 19, se aprecian los porcentajes presentes dentro del cuerpo de las abejas, a través de distintas fechas de evaluación para cada tratamiento.

CUADRO 19 Contenido porcentual de ácido araquídico, en el cuerpo de las abejas, para cada tratamiento en las distintas fechas de evaluación.

Tratamiento (*)	Muestreo 1 (**) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)	Promedio
Soya	1,65	3,04	1,79	2,41 a
Lupino	1,98	2,39	1,07	1,73 a
Testigo	1,81	3,44	1,80	2,62 a
Promedio	1,75 ab	2,96 a	1,55 b	2,25

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

(**). Al Iniciar el ensayo.

Para el caso de los tratamientos, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos, pero si existen para las distintas fechas de evaluación, ver Anexo 17. Al evaluar el ácido araquídico entre el 5 de agosto y el 8 de noviembre de 1996, se observa una disminución de 47,63 % de éste ácido en el cuerpo de las abejas.

HOLMAN (1970), señala que el ácido araquídico junto con el ácido eicosatrienoico pueden ser ocupados como indicadores de posibles deficiencia de ácidos grasos esenciales. Agrega que se puede utilizar una relación entre el ácido eicosatrienoico y el araquídico, y dice que mientras menor sea ésta relación mejor será el aporte de ácidos grasos esenciales, él estima que un valor normal es de 0,1, para los lípidos de la hemolinfa.

En la Figura 17, se observan los porcentajes de ácido araquídico en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo.

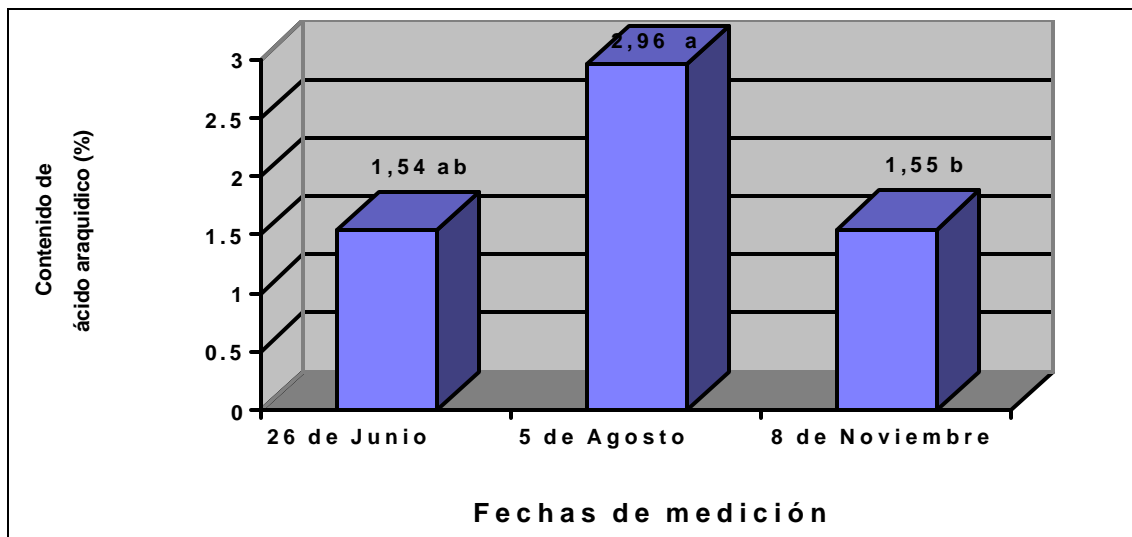


FIGURA 17 Contenido de ácido araquídico, en el cuerpo de las abejas durante el período del ensayo, expresado en porcentaje.

(*). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% TUKEY.

En el Cuadro 20, se muestran los valores de esta relación hecha para este ensayo, hay que considerar que los lípidos fueron tomados del cuerpo y no de la hemolinfa de las abejas, como lo hizo Holman.

CUADRO 20 Relación entre el ácido eicosatrienoico y el ácido araquídico.

Relación	Muestreo 1 (*) (26 junio)	Muestreo 2 (5 agosto)	Muestreo 3 (8 noviembre)
Eicosatrienoico / Araquídico	3,88	0,86	0,96

(*). Al Iniciar el ensayo.

Al analizar los datos, llama la atención lo rápido que baja la relación al 5 de agosto, si la comparamos con la condición inicial de las abejas antes del ensayo. Esta disminución en la relación entre el ácido eicosatrienoico y el ácido araquídico, indicaría que los alimentos suministrados mejoraron el aporte de

ácidos grasos esenciales. Sin embargo, no se puede concluir que éstos hayan alcanzado un nivel óptimo o normal, ya que no se encontraron valores de referencia para poder comparar estos resultados.

4.3 Consumo de los suplementos proteicos.

Las colmenas fueron suministradas en dos oportunidades con las mezclas correspondientes de azúcar con soya, azúcar con lupino y solamente azúcar en el caso del tratamiento testigo. En el primer retiro del sobrante de los tratamientos, las mezclas de soya y lupino presentaron hongos visibles, en cambio el tratamiento con azúcar no presentó este tipo de alteraciones, ya que fue consumido totalmente. En el segundo retiro del sobrante de las mezclas alimenticias, no se presentaron problema de hongos, presumiblemente por las mejores condiciones ambientales que desfavorecieron la aparición de hongos, además en este segundo retiro de alimento sobrante, el consumo fue mayor, permaneciendo una menor cantidad de la mezcla desde el suministro hasta el retiro de ésta.

Al observar el Cuadro 21 y la Figura 17, que muestran los promedios de las cantidades consumidas por cada tratamiento, para dos retiros del alimento sobrante, se puede apreciar que en el segundo retiro hubo una tendencia al aumento en el consumo de la soya y el lupino. En el caso de la soya, esta tendencia fue de un 31,56% aproximadamente y en el lupino fue de un 35,92% aproximadamente. Los aumentos del consumo de suplemento proteico por parte de las abejas fueron similares entre ellos.

CUADRO 21 Consumo de los tratamientos en cada muestreo, expresado en gramos.

Tratamientos (*)	Consumo desde el 16 jun. al 10 sep.	Consumo desde el 16 sep. al 8 nov.	Promedio
Soya	41,50 a	54,16 a	47,83 a
Lupino	29,87 a	40,60 a	35,23 a
Promedio por época	35,68 a	47,38 a	Media general 41,53

(*). Letras distintas indican diferencias estadísticas significantes al 5%, TUKEY.

Al comparar el consumo de los alimentos sustitutos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, a pesar que en el segundo período se puede apreciar una tendencia de mayor consumo, ver Anexo 18. Sin embargo, hay que considerar que el tiempo de consumo del segundo período (desde el 16 de septiembre al 8 de noviembre) es menor, siendo éste de sólo dos meses y no de tres meses como el primer período (del 16 de junio al 10 de septiembre). Por lo tanto, solo se puede decir, que en promedio 83,06 gramos de sustituto proteico, fueron consumidos durante el ensayo, el cual duró 150 días. Para obtener una visión mas detallada del consumo de las abejas durante el periodo de ensayo, se analizaron los consumos diarios, ver Anexo 19. De este análisis se puede concluir, que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los consumos de harina de soya y harina de lupino, los cuales presentaron en promedio, un consumo aproximado de 0,63 gramos por colmena al día.

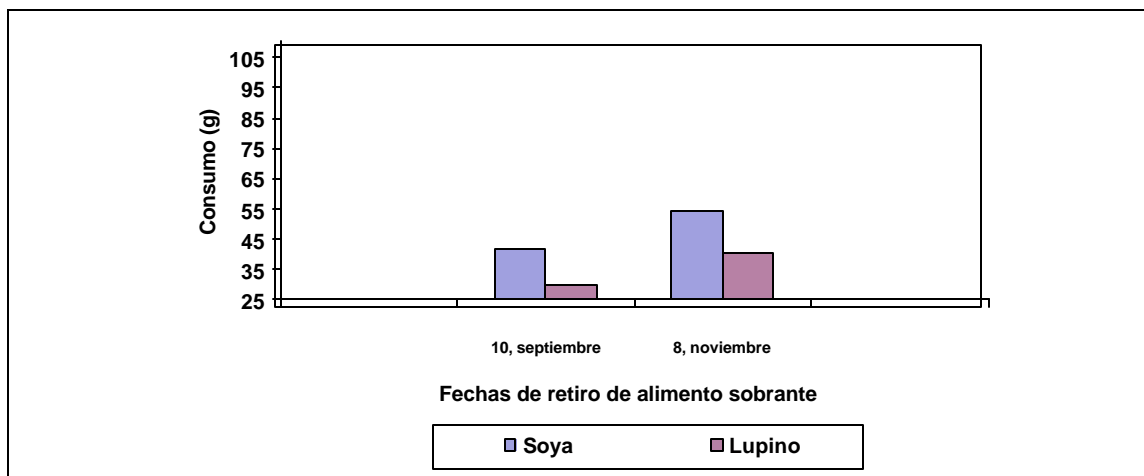


FIGURA 18 Consumo de los tratamientos, en las dos fechas de retiro del alimento sobrante, en gramos.

En resumen, no existen diferencias de consumo entre los tratamientos sustitutos.

En cuanto al lupino no se encontró información disponible de su utilización como suplemento proteico en colmenas de abejas, la cual permitiría comparar características de consumo con otras experimentaciones.

La evolución del consumo en los dos intervalos de tiempo evaluados, se puede observar en la Figura 19.

Existe un aumento del consumo promedio de las dos épocas de recolección de un 12%, pero que estadísticamente no es significativa (Anexo 20).

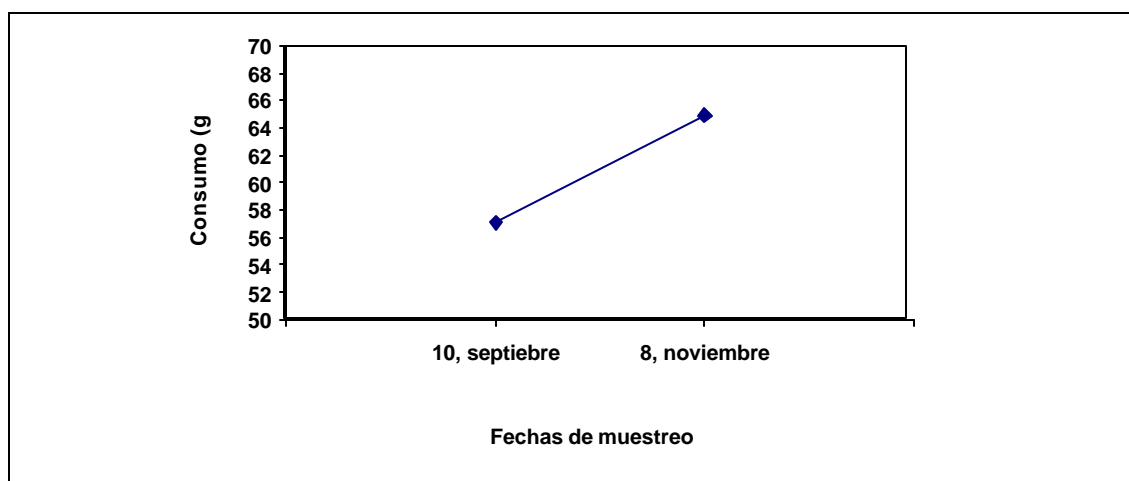


FIGURA 19 Evolución del consumo de los tratamientos, durante el período de evaluación.

En referencia al tratamiento testigo, alimentado solamente con azúcar, éste fue consumido en su totalidad por las abejas.

LOUVEAUX (1978), señala que la sacarosa pura no posee competencia, sostiene que las abejas poseen una enzima, para obtener de la sacarosa, una mezcla rica en glucosa y fructosa, cuya composición se parece a la miel.

5. CONCLUSIONES

A partir de este estudio y bajo las condiciones en que fue realizado, se puede concluir lo siguiente.

- El empleo de los suplementos proteicos durante el invierno de harina de soya y harina de lupino no produjo un incremento, estadísticamente significativo, en el contenido proteico corporal de las abejas.
- El porcentaje de lípidos en el cuerpo de las abejas, durante el período del ensayo, no presentó variaciones de importancia que pudiesen mostrar diferencias estadísticas entre los tratamientos o en las tres fechas de muestreo realizadas.
- El consumo de los suplementos, harina de lupino y harina de soya, no mostró diferencias estadísticas, siendo consumidos en igual cantidad.
- Los contenidos de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, presentes en el cuerpo de las abejas, no cambiaron con los distintos tratamientos durante el ensayo.
- La concentración de los ácidos grasos esenciales, eicosatrienoico y araquídico mostraron una disminución de un 75,42% y 47,64% respectivamente, el eicosatrienoico presento ésta disminución desde el inicio hasta el término del ensayo, y el araquidico entre el segundo y el tercer muestreo.
- Los ácidos: oleico, nervónico, cerótico, araquídico, behérico, palmítico y esteárico, resultaron ser los ácidos grasos de mayor contenido en las abejas, al

final del ensayo. Los ácidos cerótico, oleico y linoleico, fueron los ácidos grasos, saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, con mayor nivel en el cuerpo de las abejas, respectivamente.

6. RESUMEN

La investigación se planteó como objetivo evaluar los efectos de dos suplementos proteicos, harina de lupino y harina de soya, sobre la condición corporal de *Apis mellifera L.*

Durante el período junio a noviembre de 1996, se tomaron muestras de abejas adultas, en colmenas ubicadas en la ciudad de Valdivia. Las muestras fueron analizadas en laboratorio, evaluándose los porcentajes de proteína y lípidos presentes en el cuerpo de las abejas, además se cuantificó el consumo de los alimentos usados en esta experimentación. Este estudio fue evaluado estadísticamente con un análisis de varianza multifactorial.

Los resultados obtenidos muestran que el empleo de los suplementos para lograr un aumento significativo de las proteínas corporales en *Apis mellifera L.*, no fue efectivo en ninguno de los alimentos sustitutos. En cuanto al porcentaje de lípidos corporales tampoco existieron diferencias entre los tratamientos con harina de lupino y harina de soya. El consumo de los suplementos alimenticios fue similar para ambos tratamientos, correspondiendo al 40% aproximadamente del suministro total, a diferencia del tratamiento testigo con azúcar, el cual fue consumido en su totalidad.

Al analizar la composición de ácidos grasos del cuerpo de las abejas, en respuesta a los suplementos proteicos, se pudo observar una mejoría en el aporte de ácidos grasos esenciales, aunque no se puede asegurar que estos hayan alcanzado un nivel óptimo para el desarrollo de las abejas.

SUMMARY

This research had the objective to evaluate effects of two protein supplements, lupin and soyabean flours, on the corporal condition of ***Apis mellifera L.***

From july to november of 1996, samples of adult honey bees, were taken from hives placed in the city of Valdivia. The samples were analyzed in the laboratory, evaluating the percentages of protein and lipids present in the body of the honey bees. The food consumption was quantified as well. This study was evaluated statistically with a multifactorial variance analysis.

Results obtained showed that used method to get a significant increase of corporals proteins in ***Apis mellifera L.***, was not effective in any of the supplement food. With reference of corporal lipids there were not differences between the lupin and soybean flour treatments. The consumption of supplements food was identical for both treatments, corresponding to ca. 40%. Of the total supplies, with a difference of control treatment with sugar, with was totally exhausted.

After analizing the composition of the body fatty acids from the honey bee in response to the protein supplement, an improvement in the esencial fatty acids was observed, although it is not possible to considerer that the level obtained is optimal for the normal development of the honeybees.

7. BIBLIOGRAFIA

- ANUARIO 1996. Dirección de Meteorología de Chile. Dpto. Climatología y Meteorología Aplicada. Subdepartamento Climatología. Santiago. Chile. 1861 p.
- ALMEIDA, E. y BARBOSA, R. 1982. Alimentación estimulante con suplemento de proteína, efectos en la producción de miel. *Apiacta* 17 (3-4) : 120-121.
- BATEMAN, J. 1970. Nutrición Animal. Manual de métodos analíticos. México, Herrera. 468 p.
- BORROR, D. 1976. An introduction to the study of insects. 4th ed. The Ohio State University, USA. 852 p.
- BURR, G. y BURR, M. 1929. A new deficiency disease produced by rigid exclusion of fat from the diet. *Journal Biological Chemistry*. Maryland, USA. 82 : 345-367.
- BURR, G. y BURR, M. 1930. On the nature and role of fatty acids essential in nutrition. *Journal Biological Chemistry*. Maryland, USA. 86 : 587.
- CARDENAS, M. 1977. El cultivo del lupino en Chile. *In Situación, análisis y perspectivas del lupino en Chile*. Santiago, Fundación Chile. pp 27-35.
- CERLETTI, R., FUMAGALLI, A. y VENTURIN, D. 1978. Nutritional quality of the leguminosa. *Journal Food Science*. Milan, Italia. 43 : 1409.

- CHAPMAN, R. 1982. The Insects : Structure and function. 3th ed., Cambridge, Massachusetts. USA. Harvard University. 919 p.
- CHHUNELA, P. 1992. Studies on some pollen substitutes fed as moist-patty to *Apis mellifera* colonies. Preparation on consumption. Indian Bee Journal 54 (1-4) : 48-57.
- COOK, V. y WILKINSON, P. 1986. Pollen feeding boots broad in colonies. British Bee Journal 114 (49) : 223-226.
- CRANE, E. 1990. Bees and beekeeping ; science, practice and wold resources. USA. Cornell University. 614 p.
- DIETZ, A. 1975. Alimentación de la abeja melífera adulta. In : Dadant. La colmena y abeja melífera. Montevideo, Uruguay. Hemisferio Sur. pp. 173-212.
- DONALD, H. y ROBERTSON, N. 1976. Food and factories. Food, agriculture and the environment. London, Inglaterra. Blochie 130 p.
- DOUGLAS, C. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Traducido por Jaime Delgado Saldivar. Tecnología y Estudios Superiores de Monterrey, Campus León. Ciudad de México, México. 589 p.
- DURANTI, M., RESTANI P., PONIATOWSK M. y CERLETTI P. 1981. Chemical components of the lupino. Phytochemistry. Milan, Italia. 20 : 2071-2077.
- FAKUDA, H. 1983. The relationship between work efficiency and population size in a honey bee colony. Reseach Population Ecology. Copenhagen, Dinamarca 25 : 249-263.

- FUKUSHIMA, D. 1980. Chemical deterioration of protein. Whitaker & Fujimaki, Washington D.C. ACS Symposium. 211 p.
- GARCIA, C. 1975. Proteines. Laussane. Suiza. Nestlé S.A.. 36 p.
- GEBRE-EGZIABHLER A. y SUMNER A. 1983. Analysis of the beans commons. Journal Food Science. Saskatoon, Canada. 48 : 375.
- GOULD, J. y GRANT, C. 1988. The honey bee. New York, USA. Freeman and Company. 239 p.
- GRAHAM, J. 1992. The Hive and the Honey Bee. Michigan, USA. Bookcrafters Chelsea. 1324 p.
- HAYDAK, M. 1934. Changes in total nitrogen content during the life of the imago of the worker honey bee. Journal Agricultural Research. Washington D.C. 49 : 21-28.
- _____. 1937. Further contribution to the study of pollen substitutes. Entomological Society of America. 30 : 637-642.
- _____. 1967. Bee Nutrition and Pollen Substitutes. Apiacta. Bucarest, rumania (1): 3-8.
- _____. 1970. Honey bee nutrition. Annual Review of Entomology. Minnesota, USA. 15 : 143-156.

- HEINRICH, B. 1980. Mechanisms of body-temperature regulation in honeybees, *Apis mellifera*. *Journal experimental biology*. Cambridge, Inglaterra. 40 : 235-249.
- HERBERT, E., SHIMANUKI, H. y ARGANER, R. 1983. Effect of feeding pollen substitutes to colonies of honey bees (Hymenoptera : Apidae) Exposed to Carbaryl. *Entomological Society of America*. 12 (3) : 758-762.
- HERBERT, E. 1992. Honey bee nutrition. In *The hive and the honey bee*. Michigan, USA. Dadant and Sons. pp 197-224.
- HODGES, C. 1985. Bumblebee foraging : Energetic consequences of using a threshold departure rule. *Ecology*. New York, USA. 66 : 188-197.
- HOLMAN, R. 1970. Progress in the chemistry of fat and other lipids. New York, USA. Advisory Board. 96 p
- JOHANSSON, M. 1978. Some important operations in bee management. Published by International Bee Research Association, London, Inglaterra. 145 p.
- KLEINSCHMIDT, G. y KONDOS, A. 1978. Effects of feeding pollen to honey bees. California, USA. *Apicultural*. 32 : 5-14.
- KULINCEVIC, J., ROTHENBUHLER, W. y RINDERER, T. 1982. Disappearing disease. Part 1-Effects of certain protein sources given to honey bee colonies in Florida. *American Bee Journal* 112 (3) : 189-191.
- LOUVEAUX, J. 1978. Alimentación de la abeja. *Apiacta*. Francia. 13 (1) : 13-15.

- MACICKA, M. 1987. (Effect of pollen and substitutes on hypopharyngeal glands, fatty tissue, length of life and content of nitrogen compounds in the fat of bee bodies). Vedecke Prace Vyzkumneho Ustavu Vcelarskeho v Dole 9:137-148. (Original no consultado). Compendiado en: CAB abstracts AN 870219943.
- MASSON, L., y MELLA, M. 1985. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. Composición en ácidos grasos. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. 31 p.
- MILLS, J. 1981. Feeding honeybees : A key factor for population control. Australasian Beekeeper 82 (9) : 210-213.
- MUSA, F., ABDELLA, M., y EL-SARRAG, M. 1989. Studies on feeding colonies of honeybees in sudan. Proceedings of the fourth internationale conference on apiculture in tropical climates. 6-10 nov., El Cairo, Egypt. pp 27-28.
- OHE, W. 1987. Evaluation of various protein products for their use as pollen substitute fit for bees. Apidologie. Paris, Francia. 18 (4) : 350-352.
- ROCKSTEIN, M. 1978. Biochemistry of insects. London. Academic Press. 649 p.
- ROEDER, K. 1953. Insect physiology. New York, USA. Wiley. 1100 p.
- SCHMIDT-HEBBEL, H. 1966. Química y tecnología de los alimentos. Santiago, Chile. Salesiana. 316 p.

- SCHMIDT-HEBBEL, H. 1984. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist (AOAC). Virginia, USA. 1141 p.
- SCHMIDT-HEBBEL, H. y PENNECCHIOTTI, I. 1985. Tabla de composición química de los alimentos chilenos. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. 61 p.
- SEPULVEDA, J. 1980. Apicultura. Barcelona, España. Aedos. 419 p.
- SHAPIRO, J. 1988. Lipid transport in insect. Annual Review of Entomology. Florida, USA. 33 : 297-318.
- SHIMANUKI, H. y HERBERT, E. 1986. An artificial protein diet for bee colonies. proceedings of the XXXth International Congress Of Apiculture, Nagoya, Japon. 985. 330-334.
- SHUEL, R. y DIXON, S. 1986. An artificial diet for laboratory rearing of honeybees. Journal of Apicultural Research. Louisiana, USA. 25 (1) : 35-43.
- SOSULSKI, F. y YOUNG, C. 1979. Carachteristic of cereals and beans. Journal American Oil Chemistry Society. 48 : 375.
- STANDIFER, L., MCDONALD, R., y LEVIN, M. 1973. Influence of the quality in pollens and of pollen substitute on the development of the hypopharyngeal glands of honey bees. Annals Entomological Society of America 63 (3) : 909-910.

- SZYMAS, B., y TORGOWSKI, T. 1980. The effects of artificial protein diets on the development of certain organs (pharyngeal glands, fat body and ovarios) of the honeybee. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu*, 120 : 127-133.
- SZYMAS, B. 1994. (Evaluation of the nutritive value of pollen substitutes for the honey bees (*Apis mellifera*). *Rosprawy-Naukowe*. Poznan, Polonia. 68 p. (Original no consultado).compendiado en: CAB abstracts AN 950201520.
- VECCHI, M. y SABATINI A. 1995. Protein values of blood in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apicultura* 10 (1) : 43-57. (Original no consultado). Compendiado en: CAB Abstracts AN 970200009.
- VON BAER, E. 1986, IV Seminario de leguminosas de grano. Universidad de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago, Chile. Publicaciones Miscelaneas N° 16, 288 p.
- WATANABE, H. 1993. Effect of pollen substitute and a sugar additive on honeybees. *Honeybee Science*. Tokyo, Japon. 14 (3) : 133-135.
- WINSTON, M. 1987. The biology of the honey bee. Massachusetts, USA. Harvard University. 281 p.
- ZAYTOON, A., MATSUKA, M. y SASAKI, M. 1988. Feeding efficiency of pollen substitute in a honeybee colony: effect of feeding site on royal jelly and queen production. *Entomological Society of America*. 23 : 4, 481-487.

ANEXOS

ANEXO 1 Cronograma de la toma de muestras.

Correspondiente al año 1996.

- | | |
|-------------------|--|
| 26 de junio, | <ul style="list-style-type: none">- Se toma la primera muestra de abejas, para conocer la condición de éstas abejas al inicio de la experimentación.- Se aplica por primera vez los suplementos alimenticios consistentes en harina de lupino, harina de soja y como tratamiento de control azúcar. |
| 19 de julio, | <ul style="list-style-type: none">- Renovación de azúcar (aplicación de una segunda dosis). Y revisión de la condición de los colmenares. |
| 5 de agosto, | <ul style="list-style-type: none">- Primer muestreo de abejas para tener un conocimiento de la condición de las abejas y su evolución corporal. |
| 10 de septiembre, | <ul style="list-style-type: none">- Recolección de alimentos sobrantes de los sobres con harina de la primera aplicación de los sustitutos. |
| 16 de septiembre, | <ul style="list-style-type: none">- Reposición de los suplementos proteicos (segunda aplicación), como del azúcar (tercera aplicación). Al mismo tiempo se hará una aplicación de miel a todos los tratamientos como una forma de paliar las inclemencias del invierno. |
| 8 de noviembre, | <ul style="list-style-type: none">- Fecha de término de la experimentación que corresponde a 5 meses (150 días).- Recolección de alimentos sobrantes en los sobres para ser evaluados posteriormente, esta es la segunda y última recolección.- Segundo y último muestreo de abejas para evaluación final de su condición. |

ANEXO 2 Contenido de proteínas en abejas (%).

Tratamiento	Condición inicial (26/Jul/96)	Primer muestreo (5/Ago/96)	Segundo muestreo (8/Nov/96)
SOYA	47.42 49.26 46.15 42.04	40.68 X 52.1 48.34	50.61 X 41.82 55.9
LUPINO	42.68 52.71 46.94 45.8	45.15 49.43 44.36 41.25	44.75 52.24 X 50.13
AZUCAR	41.3 45.58 43.57	37.14 X 37.66	X X 45.68

ANEXO 3 Contenido de lípidos en abejas (%).

Tratamiento	Condición inicial (26/jun/96)	Primer muestreo (5/ago/96)	Segundo muestreo (8/nov/96)
SOYA	4.46 4.05 6.14 4.54	6.3 X 3.63 4.42	6.54 X 3.97 6.8
LUPINO	3.8 5.96 5.18 3.45	7.07 7.7 5.4 5.81	4.5 6.67 X 7.49
AZUCAR	2.092 4.41 3.51	3.04 X 3.61	X X 7.39

ANEXO 4 Consumo (g) de las mezclas usadas para los tratamientos.

Suplemento	Consumo a la primera recolección (26-Jul-96)	Consumo de la segunda recolección (05-Ago-96)	Promedio estadístico (g)
SOYA	6.8 X 37.4 25.3	100 X 29.2 32.9	47.83
LUPINO	11.6 14.3 65.8 27.8	28.5 28.1 X 65.2	35.23
AZUCAR	100 X 100	X X 100	100
Cada vez que se suministró la mezcla, esta fue de 100 gramos			

(X). Representa a las colonias muertas durante la experimentación.

ANEXO 5 Análisis de varianza para el nivel de proteína.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza Inicio efecto principal	7.53678	1	7.53678	.29	.6022
A: Alimento	66.4871	2	33.2435	1.29	.3225
B: Epoca	78.7094	1	78.7094	3.05	.1149
interacción AB	14.5156	2	7.25779	.28	.7615
Residual	232.516	9	25.8351		
Total	464.343	15			

F= Calculado, está basado en la siguiente suma de cuadrados (0) Residual (2) AB

ANEXO 6 Tabla de promedios estadísticos para el nivel de proteína. 95% confianza .

Fuente		Repetición	Promedio	Error standart	Límite inferior	Límite superior
Promedio general		16	45.7748			
Alimento						
1		6	48.3248	2.08076	43.6178	53.0318
2		7	46.865	2.04368	42.2419	51.4881
3		3	42.1345	3.30147	34.666	49.603
Epoca						
1		9	43.3184	1.78692	39.2761	47.3607
2		7	48.2312	2.19067	43.2755	53.1868
Alimento por epoca						
1	1	3	47.1232	2.93861	40.4756	53.7708
1	2	3	49.5265	2.93861	42.8789	56.1741
2	1	4	44.7057	2.61903	38.781	50.6303
2	2	3	49.0243	3.00487	42.2268	55.8218
3	1	2	38.1264	3.83747	29.4454	46.8073
3	2	1	46.1427	*5.1545	34.4823	57.803

ANEXO 7 Condiciones climáticas durante el período del ensayo.

Mes	Numero de días con temperatura (°C):					
	Mínimas <=0		Extrema mínima			
			Pichoy		Las Marías	
	Pichoy	Las marías	Mín	Fecha	Mín	Fecha
Junio	11	10	-6.0	28	-5.6	28
Julio	04	04	-4.4	14	-2.4	14
Agosto	03	03	-1.8	26	-2.0	26
Septiembre	03	03	-0.6	05	-0.4	05
Octubre	-	-	0.2	20	0.8	20
Noviembre	01	-	-1.4	02	-1.3	02
Total periodo	22	20	-6.0	Jun	-5.6	Jun

Mes	Numero de días con:		Horas de Sol
	PRECIPITACION (mm)	NUBES (octavos)	
	>=10.0	>=6/8	Total
Junio	04	02	50.8
Julio	03	02	61.5
Agosto	13	-	77.1
Septiembre	02	06	202.2
Octubre	-	03	172.6
Noviembre	04	01	197.0
Total Periodo	26	14	761.2

FUENTE : ANUARIO DIRECCIÓN DE METEOROLOGÍA DE CHILE (1996).

ANEXO 8 Análisis de varianza para el nivel de lípidos.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza Inicio efecto principal	0.714928	1	0.714928	0.39	0.5458
A: Alimento	14.777	2	7.38852	4.07	0.0550
B: Epoca	0.734746	1	0.734746	0.40	0.5404
interacción AB	1.48656	2	0.74328	0.41	0.6756
Residual	16.3285	9	1.81428		
Total	35.932	15			

F=Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 9 Tabla de promedios estadísticos para el nivel de lípidos. 95% confianza.

Fuente	Repetición	Promedio	Error standart	Límite Inferior	Límite superior
Promedio general	16	5.05451			
Alimento					
1	6	5.41511	0.59	4.07	6.75
2	7	6.360.9	0.51	5.19	7.52
3	3	3.38803	0.93	1.26	5.50
Epoca					
1	9	4.811756	0.47	3.74	5.89
2	7	5.29146	0.58	3.97	6.61
Alimento por epoca					
1 1	3	4.92	0.80	3.09	6.75
1 2	3	5.90	0.80	4.07	7.73
2 1	4	6.52	0.67	4.99	8.04
2 2	3	6.19	0.77	4.43	7.95
3 1	2	3.00	1.07	0.57	5.44
3 2	1	3.76	1.40	0.59	6.93

ANEXO 10 Análisis de varianza para ácidos grasos saturados.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza Inicio efecto principal	32.21	1	32.2168	0.6	0.45
A: Alimento	68.3321	2	34.1661	0.63	0.5522
B: Epoca	42.5584	1	42.5584	0.79	0.3970
interacción AB	20.9643	2	10.4822	0.19	0.8264
Residual	484.396	9	53.8218		
Total	722.746	15			

F =Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 11 Análisis de varianza para ácidos grasos monoinsaturados.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza Inicio efecto principal	6.28224	1	6.28224	0.21	0.6555
A: Alimento	163.894	2	81.9472	2.78	0.1150
B: Epoca	40.6691	1	40.6691	1.38	0.2706
interacción AB	91.3536	2	45.6768	1.55	0.2645
Residual	265.657	9	29.5174		
Total	536.628	15			

F =Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 12 Análisis de varianza para ácidos grasos polinsaturados.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza					
Inicio efecto principal	5.66482	1	5.66482	0.38	0.5525
A: Alimento	9.16484	2	4.58242	0.31	0.7423
B: Epoca	7.45045	1	7.45045	0.5	0.4971
interacción AB	2.0091	2	1.000496	0.07	0.9351
Residual	133.885	9	14.8761		
Total	175.653	15			

F= Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 14 Análisis de varianza para el ácido linoleico.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza					
Inicio	3.88887	1	3.88887	3.75	0.0849
efecto principal					
A: Alimento	3.47416	2	1.73708	1.67	0.2411
B: Epoca	0.449471	1	0.449471	0.43	0.5270
interacción					
AB	1.45662	2	0.728311	0.7	0.521
Residual	9.34293	9	1.0381		
Total	18.5718	15			

F= Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 15 Análisis de varianza para el ácido linolenico.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza					
Inicio	2.2548	1	2.2548	0.5	0.4989
efecto principal					
A: Alimento	4.63521	2	2.3176	0.51	0.6168
B: Epoca	1.73681	1	1.73681	0.38	0.5517
interacción					
AB	3.04586	2	1.52293	0.34	0.7237
Residual	40.8834	9	4.5426		
Total	54.0043	15			

F =Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 16 Análisis de varianza para el ácido eicosatrienoico.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza					
Inicio efecto principal	0.121238	1	0.121238	0.35	0.5666
A: Alimento	1.43142	2	0.715708	2.09	0.1798
B: Epoca	2.64014	1	2.64014	7.71	0.0215
interacción AB	0.034608	2	0.017304	0.05	0.9510
Residual	3.08366	9	0.342629		
Total	7.59884	15			

F =Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 17 Análisis de varianza para el ácido araquidico.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza					
Inicio efecto principal	1.04553	1	1.04553	3.08	0.1228
A: Alimento	1.44377	2	0.721886	2.13	0.1900
B: Epoca	5.03049	1	5.03049	14.81	0.0063
interacción AB	0.0514795	2	0.0257397	0.08	0.9278
Residual	2.37784	7	0.339691		
Total	9.86	13			

F =Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 18 Análisis de varianza para el consumo de los tratamientos.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza					
Inicio					
Efecto principal					
A: Alimento	8165.71	2	4082.85	6.16	0.0180
B: Epoca	198.971	1	198.971	0.30	0.5958
interacción					
AB	77.7121	2	38.856	0.06	0.9464
Residual	6627.11	10	662.711		
Total	16231.0	15			

F =Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

ANEXO 19 Análisis de varianza para el consumo por colmena al día.

Fuente	Suma de cuadrado	Grado de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	P Valor
Covarianza					
Inicio					
efecto principal					
A: Alimento	0.117315	1	0.117315	0.66	0.4391
B: Epoca	0.355991	1	0.355991	1.99	0.1921
interacción					
AB	0.004742	1	0.004742	0.03	0.8743
Residual	1.61129	9	0.179033		
Total	2.11409	12			

F =Calculo, está basado en la siguiente suma de cuadrados, (0) residual (2) AB

**ANEXO 20 Test de rangos múltiples para el consumo de alimentos.
Método: 95% Tukey HSD.**

Alimento	Repeticiones	Promedio	Grupos homogéneos
2	7	35.2375	X
1	6	47.8333	X
3	3	100	X
Comparación de alimentos		Diferencias	+/- Límites
1-2		12.5958	34.1517
1-3		*-52.1667	40.5593
2-3		*-64.7625	39.5818

X en distintas columnas, indican que los alimentos son distintos.

- Existe diferencia estadísticamente significativa