



**REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL GÉNERO *Bacillus* PARA EL
CONTROL DE *Hypothenemus hampei* EN CULTIVOS DE CAFÉ EN
COLOMBIA: ALTERNATIVA DE PROTECCIÓN A LAS ABEJAS**

DANIELA NARANJO QUINTANA

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
BOGOTÁ, ENERO 2019**



**REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL GÉNERO *Bacillus* PARA EL
CONTROL DE *Hypothenemus hampei* EN CULTIVOS DE CAFÉ EN
COLOMBIA: ALTERNATIVA DE PROTECCIÓN A LAS ABEJAS**

**Monografía requisito para optar por el título de Bacteriólogo y
Laboratorista Clínico**

DANIELA NARANJO QUINTANA

Asesora

LIGIA CONSUELO SÁNCHEZ LEAL, Msc.

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
BOGOTÁ, ENERO 2019**

DEDICATORIA

A mi Dios, Jesús y Espíritu Santo que me ha guiado en todo, aun desde el principio a saber escoger mi carrera profesional, porque es fiel en todo y por sus promesas:

*Pon todo lo que hagas en manos del Señor,
y tus planes tendrán éxito. (Proverbios 16:3);*

Trabajen de buena gana en todo lo que hagan, como si fuera para el Señor y no para la gente. (Colosenses 3:23); Pues yo sé los planes que tengo para ustedes —dice el Señor—. Son planes para lo bueno y no para lo malo, para darles un futuro y una esperanza. (Jeremías 29:11)

A mis padres José Néstor Naranjo Rubio y Daysi Quintana Yanguma, mis hermanos Paola Andrea, Alejandra y Juan David Naranjo Quintana porque han sido un gran regalo de Dios para mi vida, por su amor, esfuerzo y dedicación, por apoyarme siempre y porque Dios los ha dotado de gran sabiduría como padres.

Y finalmente, en memoria de mi gran amiga Laura Sofia Marulanda Posada y su madre Angelica Posada quienes fueron un ejemplo de vida y de lucha incansable por los sueños.

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo a Dios, Jesús y Espíritu Santo por darme esta gran oportunidad y proveerme de carácter, valentía, sabiduría e inteligencia necesaria para hoy en día llegar hasta este punto.

A mi familia y amigos gracias por su esfuerzo, apoyo, palabras de aliento y comprensión en cada momento que fue necesario.

A la universidad la cual puso a los profesionales y docentes idóneos para que a lo largo de la carrera hicieran un acompañamiento necesario para aportar en mi formación como profesional integra.

A mi asesora Ligia Consuelo Sánchez Leal quien con paciencia y dedicación contribuyó a lograr esta meta.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	13
1. OBJETIVOS	17
2. ANTECEDENTES	18
3. MARCO TEÓRICO	26
3.1. Abejas	26
3.1.1. Proceso de polinización	27
3.1.2. Organización de la colmena.....	28
3.1.3. Simbiosis entre la polinización y los cultivos	29
3.2. Factores influyentes en la disminución de abejas	30
3.2.1. Agroquímicos	30
3.2.2. Patógenos y plagas.....	35
3.2.3. Selenio	35
3.2.4. Implicaciones ambientales y ecológicas	35
3.2.5. Intensificación de producción.....	36
3.2.6. Pérdida de hábitat	36
3.3. <i>Cultivos de café</i>	36
3.3.1. Generalidades de <i>Coffea arabica</i>	36
3.3.2. Propiedades de los cultivos de café.....	39
3.3.3. Beneficios de las abejas en los cultivos de café.....	40
3.3.4. Plagas.....	42
3.4. <i>Hypothenemus hampei</i>	44
3.4.1. Características	44
3.4.2. Distribución geográfica	45
3.4.3. Ciclo de vida	46
3.4.4. Control de la Broca	46
3.5. Género <i>Bacillus</i>	49

3.5.1. Generalidades	49
3.5.2. Principales especies biocontroladoras.....	49
3.5.3. Toxinas.....	51
3.5.4. Lipopéptidos.....	52
3.5.5. Enzimas Líticas	53
3.5.6. Plantas transgénicas Bt.....	53
4. DISEÑO METODOLÓGICO	54
4.1. Tipo de investigación	54
4.2. Población de estudio	54
4.3. Métodos	54
5. RESULTADOS	56
6. DISCUSIÓN	63
7. CONCLUSIONES	69
8. BIBLIOGRAFÍA	71

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de los agroquímicos y su efecto en las abejas.....	32
Tabla 2. Generalidades de <i>Bacillus spp.</i>	49
Tabla 3. Principales especies biocontroladoras	50
Tabla 4. Material documental seleccionado.....	58

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Productos de la apicultura	26
Figura 2. Esquema del efecto de la polinización sobre la producción de frutos	27
Figura 3. Taxonomía de las abejas <i>Apis mellifera</i>	28
Figura 4. Ciclo de vida de la abeja	29
Figura 5. Beneficios que produce la Polinización Cruzada.....	30
Figura 6. Mecanismo de afectación neuronal de los pesticidas	34
Figura 7. Taxonomía variedades del género <i>Coffea</i>	37
Figura 8. Autopolinización	38
Figura 9. Características de los granos de <i>Coffea</i>	39
Figura 10. Abejas en cafetales	41
Figura 11. Taxonomía de <i>Hypothenemus hampei</i>	42
Figura 12. Taxonomía de <i>Leucoptera coffeella</i>	43
Figura 13. Taxonomía de <i>Dysmicoccus</i>	44
Figura 14. Dispersión de la Broca	45
Figura 15. Ciclo de vida de la Broca.....	46
Figura 16. Época crítica para el control de la Broca del café.....	47
Figura 17. Acción entomopatógena de <i>Beauveria bassiana</i>	48
Figura 18. Mecanismo de acción de las proteínas Cry	51
Figura 19. Selección de la información para el desarrollo del documento.....	56
Figura 15. Principales temas de interés para el desarrollo del trabajo	57



REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL GÉNERO *Bacillus* PARA EL CONTROL DE *Hypothenemus hampei* EN CULTIVOS DE CAFÉ EN COLOMBIA: ALTERNATIVA DE PROTECCIÓN A LAS ABEJAS

RESUMEN

La industria del café en Colombia ha sido de gran importancia económica para el país debido a su alta producción y exportación pero esta se ha visto afectada por grandes pérdidas generadas por el insecto plaga *Hypothenemus hampei* (broca) en los cafetales. El agricultor, para contrarrestar dicho efecto, ha optado por emplear sustancias tóxicas para las abejas, *Apis mellifera*, causando, posiblemente, la muerte de muchas de ellas. Esta problemática ha generado tanto disminución en la economía apícola como serios efectos en el ambiente, por su importante papel en la polinización, biodiversidad vegetal y suministro de alimentos., así como también en la calidad del fruto y aumento en la producción. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue realizar una investigación documental sobre la acción entomopatógena de las bacterias del género *Bacillus* sobre el insecto plaga de los cultivos de café en Colombia, *Hypothenemus hampei*, como alternativa para disminuir el uso de sustancias tóxicas que afectan la salud de las abejas e impiden su efectiva polinización. Se hizo una búsqueda en revistas científicas, libros y otras fuentes sobre los temas objeto de estudio, se organizó, analizó y se encontraron factores que alteran tanto la salud de las abejas, como la productividad de los cultivos de café. Se estableció que la incorporación de alternativas de control biológico y un monitoreo permanente en la salud de las abejas, es necesario para mejorar la calidad de los cultivos, aumentar su producción y generar ingresos, garantizando la sustentabilidad de los productores de café.

Palabras Claves: *Apis mellifera*, *Coffea arabica*, *Hypothenemus hampei*, toxicidad, *Bacillus*, biocontrol.

Estudiante: Daniela Naranjo Quintana

Docente: Ligia Consuelo Sánchez Leal

Institución: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Agosto de 2018

ABSTRACT

The coffee industry in Colombia has been of great economic importance for the country due to its high production and export, however, this has been affected by large losses generated by the plague insect *Hypothenemus hampei* (broca) in coffee plantations. The farmer, to counteract this effect, has chosen to use substances that are toxic to bees, *Apis mellifera*, possibly causing the death of many of them. This problem has generated both a decrease in the apicultural economy and serious effects on the environment, due to its important role in pollination, plant biodiversity and food supply, as well as in the quality of the fruit and increase in production. For this reason, the objective of this study is to carry out a documentary research on the entomopathogenic action of bacteria of the genus *Bacillus* on the insect pest of coffee crops in Colombia, *Hypothenemus hampei*, as an alternative to reduce the use of toxic substances that affect the health of the bees and prevent their effective pollination. A search was made in scientific journals, books and other sources on the subjects under study, it was organized, analyzed and found factors that alter both the health of bees, and the productivity of coffee crops. Establishing this way, the incorporation of alternatives of biological control and a permanent monitoring in the health of the bees, to improve the quality of the crops, increase their production and generate income, guaranteeing the sustainability of the coffee producers.

Key words: *Apis mellifera*, *Coffea arabica*, *Hypothenemus hampei*, toxicity, *Bacillus*, biocontrol.

INTRODUCCIÓN

Globalmente, la actividad apícola es considerada de gran importancia, no solo por la obtención directa de productos como miel, polen o jalea real entre otros, sino también, por el gran beneficio que otorga la actividad polinizadora (1), al aumentar masivamente: la producción y calidad de los cultivos, el mantenimiento de la biodiversidad vegetal, el control indirecto de plagas que compiten por el alimento (néctar y polen) y el suministro de alimentos para humanos, ganado y vida silvestre (2).

Sin embargo, esta actividad polinizadora se ha visto afectada por la disminución en las colonias de abejas melíferas, (principalmente la especie *Apis mellifera*) (3), debido a factores como: las inadecuadas prácticas de mantenimiento de las abejas, parásitos, nutrición deficiente, pérdida de hábitat, reinas en crisis y cambio climático, pero el factor al cual se le atribuye la mayor cantidad de pérdidas es al uso indiscriminado de agroquímicos, debido a su persistencia en el ambiente, y su absorción y distribución sistémica en las plantas (1,4).

No obstante, en Colombia, la necesidad de innovar y satisfacer las demandas alimentarias y económicas para el mantenimiento de los cultivos, conlleva a la agricultura a “depender” de dichos agroquímicos que contribuyen a la mayor pérdida de colonias (5,1). Adicionalmente, el método de dispersión aéreo de los agroquímicos hace posible que queden expuestos en el polen y el néctar, lo cual afecta, por su alta toxicidad, tanto a las abejas forrajeras que lo transportan como a la colonia entera que lo recibe (6). Los más utilizados en Colombia son los neonicotinoides, los organofosforados, (especialmente Clorpirifos), y los Organoclorados; con el fin de disminuir pérdidas económicas de cultivos a causas de las plagas (1).

Por otro lado, en cuestión de costos a nivel global, el servicio de polinización se estima alrededor de los 153 mil millones de euros/año, debido a que los cultivos polinizados representan el 35% del suministro mundial de alimentos

(7,8,9). Sin embargo, debido a que el uso de agroquímicos genera grandes ingresos cercanos a los US\$40 mil millones/año con la aplicación de 3 mil millones de kg de agroquímicos/año, (10), y que, por ejemplo en Colombia, el control con respecto a su uso está distribuido en 6 entidades diferentes que no se alinean en bienestar a los polinizadores y al ambiente; se puede decir que ni el gobierno ni la población ha contribuido en solucionar dicha problemática (11).

Al fin de cuentas es más costoso reducir los daños ocasionados por los agroquímicos, ya que, a nivel mundial, por cada dólar (US\$1,0) invertido para el control de plagas se deben invertir alrededor de US\$4,0 en la protección de cultivos, ya que se está eliminando con ello los depredadores y parásitos naturales beneficiosos (10). De hecho, se estima que estas investigaciones y pruebas especiales le cuestan a la nación más de US\$ 10 millones/año y una destrucción evaluada de al menos US\$ 1 billón debido a la contaminación excesiva ocasionada por estos químicos, donde, es el consumidor quien debe pagar estas pérdidas a precios más altos en el mercado (10). En efecto, se está poniendo en riesgo las 96.000 colmenas ubicadas en Colombia, en las cuales se invierten alrededor de COP\$12.335.000 para el montaje de tan solo 40 colmenas (12), y los más de 12.000 empleos directos e indirectos generados al año (13).

Como se puede evidenciar las repercusiones que genera tal disminución de polinizadores tanto a nivel económico como a nivel ecológico son masivas, y afecta hasta los cultivos de café, los cuales son el segundo sector generador de divisas en Colombia y el 4% del PIB total del país, además de ser el sustento de las más de 900.000 familias caficultoras de dicho país, con cultivos ubicados en 590 municipios y 19 departamentos. La Federación Nacional de Cafeteros, ha enfocado sus esfuerzos en disminuir dicho aumento indiscriminado de agroquímicos e implementar el fitomejoramiento, (como lo ha hecho con *Beauveria bassiana*), que disminuya el uso de contaminantes químicos, principalmente en la variedad *Coffea arabica* y recientemente la variedad *Castillo*, las cuales junto a la variedad *Caturra* predominan en el paisaje de las zonas cafeteras colombianas (14).

La principal especie cafetera en Colombia es la *Coffea arabica*, la cual está generando resistencia en los insectos blanco y siendo gravemente contaminada debido a los altos niveles de toxicidad causados por las fumigaciones exageradas implementadas para la eliminación de insectos plaga como la broca, *Hypothenemus hampei*; dicho insecto plaga produce: caída de los frutos en formación, pérdida de peso, deterioro de la calidad y disminución del precio de venta del grano (15).

Es claro, que se necesita implementar más alternativas biológicas de control, como ya se ha evidenciado con la eficacia de los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea*, y el hongo *Beauveria bassiana* (16). Así mismo, poder incorporar especies del género *Bacillus* en estudios, y en futuras investigaciones prácticas demostrando así su efectiva acción insecticida, que promueva tanto la eliminación de la broca como la promoción de la mejora de los frutos por medio de la polinización. Se ha reportado que la polinización aporta aumentos significativos tanto en la cantidad como en la calidad de los frutos en los cafetales gracias a la relación simbiótica que hay entre la polinización cruzada, dada por las abejas, y los cultivos de café que proveen el alimento suficiente para las colmenas, generando beneficios mucho más eficientes que su autopolinización (14).

Especies del género *Bacillus* tienen la capacidad de producir compuestos antimicrobianos como: toxinas, lipopéptidos y enzimas, que además de ser resistentes a diversas condiciones ambientales, pueden inhibir el crecimiento y la muerte de diversos patógenos y plagas (17). En general, las principales especies de *Bacillus* con actividad controladora sobre insectos plaga, son: *Bacillus thuringiensis* y *Bacillus sphaericus*, que actúan principalmente frente a larvas de orden: Díptera, Ortóptera, Hymenóptero y Coleóptera (18). Dichas especies de *Bacillus*, a su vez tienen subespecies que al esporularse producen cristales proteicos (Cry) y/o toxinas con efecto insecticida (18), además de tres familias de lipopéptidos de *Bacillus*, entre los que se encuentran: las Surfactinas, que colonizan la rizosfera e inducen la resistencia sistémica y la

proliferación de células bacterianas; las Iturrinas, que tienen actividad antifúngica; y, por último, las Fengicinas, producidas por subespecies de *Bacillus subtilis*, que actúan contra los filamentos de los hongos, al hacer más permeable su membrana (19).

Por lo anterior, surge como objetivo, Realizar una investigación documental sobre la posible acción entomopatógena de las bacterias del género *Bacillus* sobre el insecto plaga de los cultivos *Coffea arabica* en Colombia, *Hypothenemus hampei*, como alternativa para disminuir el uso de sustancias tóxicas que afectan la salud de las abejas e impide su efectiva polinización.

1. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar una investigación documental sobre la posible acción entomopatógena de las bacterias del género *Bacillus* sobre el insecto plaga de los cultivos *Coffea arabica* en Colombia, *Hypothenemus hampei*, como alternativa para disminuir el uso de sustancias tóxicas que afectan la salud de las abejas e impide su efectiva polinización.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Efectuar una revisión documental relacionada con los efectos tóxicos que ocasionan las sustancias controladoras de insectos plaga, en las abejas.
- Examinar información sobre la posible capacidad controladora de *Bacillus* frente a *Hypothenemus hampei*, principal insecto plaga de los cultivos de *Coffea arabica* en Colombia.
- Establecer cómo por medio de la acción biocontroladora de especies de *Bacillus*, se podría controlar al insecto plaga de los cultivos de *Coffea arabica*, *Hypothenemus hampei*, lo cual repercute en una polinización efectiva y en la buena salud de las abejas.

2. ANTECEDENTES

En Colombia los cultivos de café son importantes debido a los grandes ingresos que provee al país, lo cual repercute en un excesivo cuidado de graves plagas, como *Hypothenemus hampei*, de modo que, se relaciona directamente dicho uso descontrolado de plaguicidas con las pérdidas de colmenas enteras. Reconociendo la necesidad de una alternativa amigable con el ambiente que no produzcan efectos adversos para el hombre y el ecosistema, y que tenga efecto entomopatógeno para el control de plagas, como lo son las bacterias del género *Bacillus*. A continuación, se presentan algunos trabajos que respaldan esta afirmación.

El Ministerio del Medio Ambiente, y el Ministerio de Agricultura y de Desarrollo Rural en 1992, reconocieron la necesidad de alternativas en la agricultura para responder a la demanda de productividad, ya que con la llegada de agroquímicos en Colombia, en el año 1962, para el control de plagas y vectores de enfermedades como: Paludismo, Fiebre Amarilla, Dengue, Tripanosomiasis, Chagas, Leishmaniasis, Encefalitis y Tifus, trajeron aún más problemas que soluciones al generar riesgos para el hombre, los animales y el ambiente, así como resistencia y resurgencia de las plagas y efectos indeseables en especies no blanco. Consideraron entonces 4 factores principales por los cuales se debe implementar una alternativa limpia y sana para el ambiente, estos son: la reducción de la polinización por parte de abejas melíferas, resistencia por parte de insectos plaga, la economía proveniente de la agricultura cafetera y los apicultivos en decadencia (20).

Herrera y Polanco en 1995, analizaron las alternativas que la industria de plaguicidas y pesticidas han desarrollado para no generar efectos negativos, reconociendo que la sostenibilidad de la agricultura es de conveniencia global, y resaltando el papel de los plaguicidas biológicos y aquellos con avances en ingeniería genética, molecular y biotecnología, que pueden reducir el alto volumen de plaguicidas de síntesis, ya que se necesita de bajo volumen por

Hectárea y tienen más especificidad sobre el organismo que se desea eliminar (21).

Méndez-López *et al.* en 2003, en un estudio realizado con *Bacillus thuringiensis*, reconocen su efectividad como microorganismo biocontrolador de plagas, al demostrar su gran éxito como bacteria entomopatógena en una de las plagas que más ha recibido insecticidas sintéticos, *Hypothenemus hampei*. Gracias a las toxinas proteínicas producidas por dicha bacteria durante el proceso de esporulación, las proteínas de protoxina (Cry), que se activan en el intestino medio del insecto y forman las llamadas: delta - endotoxinas (δ -endotoxinas), que se evidencian, tienen una alta actividad insecticida sobre el coleóptero *H. hampei* (22).

En otro estudio Bustillo en 2005, demostró la efectividad que tienen los biocontroladores frente al insecto plaga de los cafetales, *Hypothenemus hampei*. En este caso utilizando los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea*, los cuales se han considerado en el programa de manejo integrado de plagas en Colombia. De hecho, en Colombia hasta dicho año fueron liberados aproximadamente 1500 millones de *C. stephanoderis*, 500 millones de *P. nasuta* y 300 millones de *P. coffea* en cafetales en los cuales la broca se había propagado ampliamente, favoreciendo la industria cafetera y un ambiente ecológicamente más sano. Además, destacó la eficacia del hongo *Beauveria bassiana*, quien provee dos beneficios: la mortalidad natural, y la fácil disponibilidad para el agricultor quien también puede producirlo en su finca. Por último, recalcó la necesidad de seguir explorando el campo del control biológico, con la introducción de nuevos insectos benéficos como *Heterospilus coffeicola*, y entomonematodos para el control de la broca en los frutos caídos, al desarrollar procesos de cría masiva, con estudios producidos in vivo sobre tejidos de insectos (16).

En el mismo año, Vázquez en 2005, recalcó que para el manejo de plagas como “la broca”, no se deben utilizar alternativas químicas, por el contrario, se deben impulsar programas de manejo agroecológico, con tres estrategias que

incluyan: la conservación de los enemigos naturales, el aumento mediante aplicaciones de microorganismos (bioplaguicidas) o importación de enemigos naturales eficientes. Entre los bioplaguicidas estudiados, menciona la efectiva acción de: la cepa (LBb-32) de *Beauveria bassiana*, epizootias de este basidiomiceto y nematodos entomopatógenos (23).

Ibarra *et al.* en 2006, identificaron diferentes microorganismos biocontroladores que actúan sobre insectos y fitopatógenos que afectan la producción agrícola, y destacaron la acción de: bacterias (*B. thuringiensis*, *B. subtilis*), baculovirus (NPV y GV) y hongos (*P. fumosoroseus*, *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *T. harzianum*). Se demostró además, que la bacteria *Bt israelensis* produce una proteína (Cyt) que funciona como receptor de sus otras toxinas (Cry), aumentando así su actividad tóxica y evitando la aparición de insectos plagas resistentes a sus toxinas (24)

Badii y Abreu en 2006, revelaron que existen 3 especies de *Bacillus* que pueden ejercer control sobre insectos plaga, entre ellos esta: *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus*, y *Bacillus popilliae*. Durante su proceso de esporulación producen cristales proteicos, los cuales son tóxicos para insectos de orden: Díptera, Ortoptera, Hymenoptero y Coleoptera. *Bacillus thuringiensis* produce esporas con cristal que al liberarse en el estómago del insecto plaga, provoca inicialmente diarreas y parálisis intestinal al entrar en el tubo digestivo y romperse el epitelio por la multiplicación de bacterias. Las esporas entran en el resto de órganos y tejidos vitales del insecto, lo cual conlleva a movimientos muy lentos, seguidos de convulsiones y una parálisis general, por lo que el insecto no se alimenta y muere por debilidad. Además, destacan los grandes beneficios que aporta *Bacillus thuringiensis* al no ser tóxico en animales superiores ni tampoco en otros insectos, como artrópodos o abejas y abejorros, y tampoco es posible que se desarrolle resistencia por parte de las plagas. Por lo anterior, se ha querido implementar *Bacillus thuringiensis* en diferentes presentaciones, como en plantas transgénicas de *Bacillus thuringiensis tenebrionis* que pueden producir toxinas específicas contra Coleópteros, donde las larvas afectadas cambian de color, frecuentemente de negro a marrón (18).

En otro estudio, Van Driesche *et al.* en 2007, reconocieron el uso de la bacteria *Bacillus thuringiensis Berliner* como principal bioplaguicida y el uso de sus genes en plantas transgénicas para expresar sus toxinas. Estas plantas pueden remplazar los plaguicidas convencionales y mejorar los cultivos al favorecer el crecimiento de enemigos naturales, favoreciendo el control biológico de insectos, que, al ingerir las esporas, mueren por envenenamiento de las toxinas y la multiplicación de las bacterias. La segunda especie de control biológico es *B. sphaericus*, quien también mata las larvas de mosquitos, al ingerir sus esporas; dicha bacteria ya sea sola o en combinación con genes de otras bacterias, se ha implementado para el control de *Culex spp.* y de mosquitos que se crían en agua contaminada. (25).

Ya para el año 2011, la CPPA (Organización de la Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura en Colombia), empezó a expresar su interés y preocupación frente a la pérdida masiva de abejas gracias al uso indiscriminado de agroquímicos y sustancias tóxicas implementadas en los cultivos. Y consolidó el Plan Estratégico de Acción 2011 – 2025, que entre muchas otras cosas, reconoce la importancia de la identificación de factores que afectan las abejas y la necesidad de implementar prácticas de manejo preventivas y alternativas de tratamiento que tengan bajo impacto en el ambiente, así como fomentar un ambiente apto tanto para la producción apícola como para los cultivos circundantes a los apiarios (5).

En un estudio realizado por Corrales Ramírez *et al.* en 2012, en la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, evaluaron la capacidad de *Bacillus sphaericus* como posible controlador biológico en las larvas de tres vectores biológicos diferentes: *Culex*, *Anopheles* y *Aedes*. A través de bioensayos a nivel de laboratorio, se demostró el alto nivel de eficacia de *Bacillus thuringiensis* y su cristal toxina y proteínas que, al activarse en el intestino de las larvas gracias al pH específico de este órgano, rompe el intestino, causar septicemia y finalmente causa la muerte (26).

Ya para el año 2012, Jaramillo demostró los beneficios que produce las abejas en los cultivos gracias a su polinización, los cuales se están perdiendo debido a la problemática ya mencionada. Este estudio realizado en dos municipios cafeteros del suroeste del Departamento de Antioquia, demostró que por medio del fitomejoramiento se podía obtener una alta productividad en cultivos de café de las variedades *Coffea arabica*, *Castillo* y *Caturra* que son las que predominan en el paisaje de las zonas cafeteras en Colombia, las cuales tienen capacidad autopolinizadora. Poniendo en evidencia los beneficios de la polinización cruzada, mediada por abejas melíferas, si se eliminara el uso de sustancias que son tóxicas para ellas. Señaló que la producción (número de granos por planta) y la calidad de sus semillas (peso y aroma) pueden aumentar gracias a la polinización cruzada mediada por abejas silvestres. Y, también reveló que la diversidad y abundancia de los polinizadores dependían de la cercanía de los cultivos a zonas naturales o de bosques, y su eficiencia era notoria tanto en la producción de café, como en el comportamiento de forrajeo y la frecuencia de las visitas florales por parte de las abejas silvestres, aun cuando se reportan valores de autopolinización superiores del 90%; los géneros *Augochorella*, *Apis*, *Trigona* y *Lasioglossum* fueron los principales visitantes de las flores de café y quienes mejoraron el rendimiento y la calidad de los cultivos gracias a la polinización (14).

En un estudio realizado por la Universidad Nacional de Colombia en 2013 se confirmaron los beneficios de la polinización cruzada, mediada por abejas melíferas, al observarse una mayor concentración de azúcares (grados Brix), en los frutos expuestos a este tratamiento, lo cual mejora el sabor y el aroma de los granos de café, de modo que representa un gran éxito en cuestión de productividad. También, trae consigo grandes beneficios para las abejas, ya que los cultivos de café permiten la conservación y alta diversidad de estas. Y concluyen que un país como Colombia de tradición cafetera y siendo uno de los mayores exportadores de granos de café en el mundo, este hallazgo puede contribuir, también, a crear nuevas prácticas que van a optimizar la producción de alimentos en suficiente cantidad, sanos y seguros para los consumidores, al instalar colmenas artificiales cerca de las plantaciones. Además, revelan cómo

se puede llamar la atención de los polinizadores de diferentes maneras, para su estudio: visualmente por el color, la forma, el tamaño y el grado de agrupamiento de las flores, en el caso del color representa el indicativo del tipo de recompensa (si las flores son blancas o amarillas suelen producir gran cantidad de polen, mientras que las rosadas y azules suelen segregar néctar); y la otra forma es por el olor, con la producción de compuestos químicos volátiles que ayudan tanto a la dispersión de su propio polen como para la recepción del polen proveniente de otra flor (27).

Ramírez *et al.* en 2013, realizaron un estudio con abejas *Apis mellifera*, *Trigona tubiba* y *Oxytrigona mellicolor*, que son las más frecuentes en flores de café que crecen bajo la sombra de árboles, y evidenciaron que estas ayudan a mejorar la fecundidad y a preservar la diversidad genética de bosques tropicales que se encuentran cerca. Concluyendo así, que esta mejora podría contribuir a la regeneración de bosques, además recalcan la labor de los cafetales de sombra como beneficio para la biodiversidad al ofrecer excelentes condiciones para aves, murciélagos y otros animales, y disminuir así el uso de pesticidas y fertilizantes, porque aprovechan la descomposición de las hojas de los árboles que las cubren (28).

En otro estudio, Arena y Sgolastra en 2014 realizaron un meta-análisis en el cual se comparaba la sensibilidad de 19 especies de abejas (*Apiformes*), en relación con la sensibilidad de *A. mellifera* a los pesticidas, insistiendo en la importancia de su polinización en los cultivos y su conservación. Revelaron que la abeja melífera *Apis mellifera* era menos sensible a los plaguicidas en comparación con otras especies de abejas, sin embargo, reconocen que el efecto de los pesticidas depende de la sensibilidad que tengan en cada ciclo de vida, de la actividad de anidación y del comportamiento de alimentación, factores que se deben tener en cuenta para su protección y buena salud para realizar su labor en la preservación de cultivos (9).

Calderón *et al.* en 2014, por medio de su investigación quieren que se siga incursionando en soluciones sostenibles y benéficas que ayuden en el control

de vectores y plagas agrícolas. Desarrollaron medios que satisfacen la demanda metabólica de una cepa nativa (*Bacillus sphaericus* UCMC B3), contribuyendo a su crecimiento, esporulación y actividad toxigénica, generando un aumento en la biomasa y un estrés proporcional al microorganismo, en especial con el medio GTA. Y establecieron que esta cepa nativa podría emplearse para el control de plagas como los lepidópteros, larvas de *Tuta absoluta* y *Plutella xylostella*, y los medios de cultivos desarrollados se pueden generar a gran escala ya que los sustratos empleados son de fácil acceso, comunes, cotidianos, económicos y con grandes rendimientos. Por último, plantea la alternativa de involucrar otras sustancias o combinación de otros entomopatógenos o microorganismos, como por ejemplo el uso de extractos de plantas como el de la hoja de Aloe vera en conjunto con *B. sphaericus* contra el vector del *Chickungunya* y *Aedes aegypti* (29).

Sánchez y Franklin en 2016, expusieron otros factores que contribuyen a pensar en *Bacillus* como un efectivo biocontrolador. La actividad de las tres familias de lipopéptidos de *Bacillus*, actúan como potenciales biocontroladores: las Surfactinas, que pueden inducir resistencia sistémica y proliferar células bacterianas, colonizando así la rizosfera; las Iturrinas, que tienen actividad antifúngica; y, por último, las Fengicinas, producidas por subespecies de *Bacillus subtilis*, que actúan contra los filamentos de los hongos, al hacer más permeable su membrana (19)

Por otro lado, Berne Pinto *et al.* en 2017, sugiere que una o más toxinas de *Bacillus* podrían conferir el efecto larvicida, dependiendo de la carga bacteriana y el tiempo de exposición, siendo una alternativa prometedora para el control de nematodos gastrointestinales en el ganado y su viabilidad aun en presencia de antihelmínticos en la medicina veterinaria, que ya al ser intensificado su uso ha desencadenado resistencia frente a estos antihelmínticos. En las pruebas in vitro, *B. thuringiensis* var. *Israelensis* (Bti) mostró la mayor resistencia a los medicamentos, con un porcentaje del 90-94%, y en las pruebas in vivo demostró su gran actividad larvicida contra *Trichostrongylides* bovinos (30).

Bordier *et al.* en 2017, estudia los efectos que causan las sustancias tóxicas, que se aplican en los cultivos para eliminar las plagas, y reconoce que quizás las abejas no se han enfrentado con estos nuevos factores estresantes durante el tiempo suficiente para desarrollar respuestas inmunes. Y resalta que la exposición aguda a dosis subletales de dos plaguicidas (fipronil y deltametrina), no presentó respuesta inmune por parte de las abejas, lo cual se demostró en la falta de expresión de vg y jhe, (vitelogenina – vg, que tiene función protectora contra el estrés oxidativo y hormona esterase juvenil – jhe, implicada en la degradación de la JH). Es decir, no hubo respuesta inmune de parte de estos polinizadores, que logrará enfrentar la toxicidad de los pesticidas (31).

3. MARCO TEÓRICO

3.1. ABEJAS

Se estima que en Colombia existen cerca de 40.000 colmenas en todo el territorio, de las cuales hay aproximadamente 2100 apicultores por cada 20 colmenas, que generan ingresos gracias a los productos otorgados por la apicultura (32). **(Figura 1)**

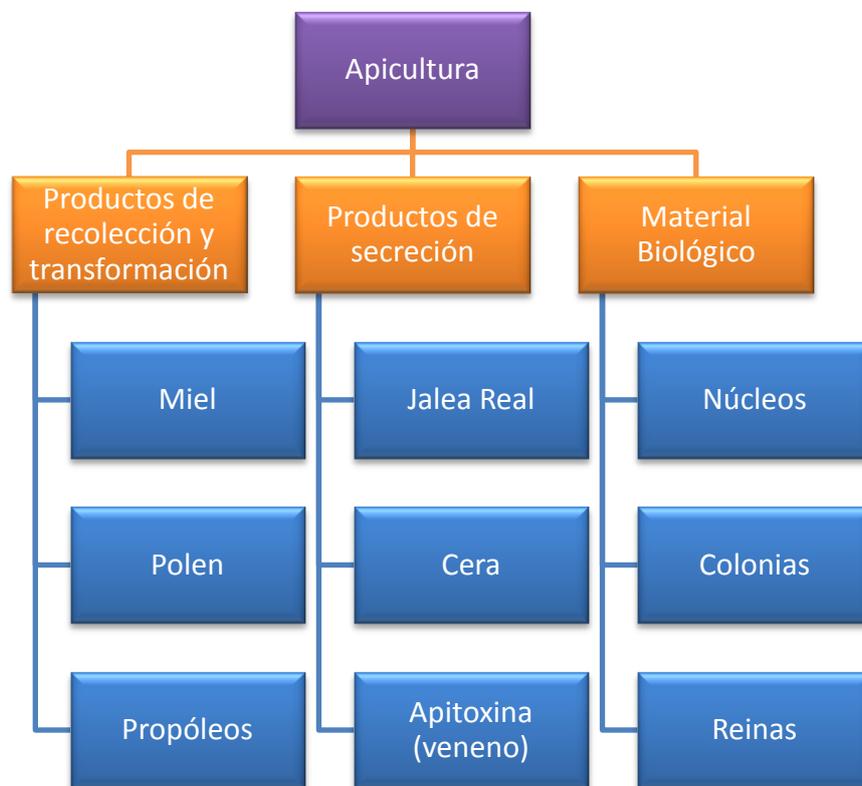


FIGURA 1. Productos de la apicultura; Tomada de “Sistema de Información de Gestión y Desempeño de Organizaciones de Cadenas – SIOC” (5). Modificada por investigadora.

Actualmente, en la apicultura colombiana se trabaja con la abeja *Apis mellifera*, la cual produce el 90% de la producción nacional de polen, necesaria para incrementar el rendimiento de los cultivos y la apicultura (33), además de favorecer el 75% de cultivos a nivel mundial al incrementar el rendimiento y el retorno económico de sus cultivos (5). Adicionalmente, son fundamentales para

el mantenimiento de la vida sobre la tierra permitiendo que las plantas en flor produzcan cualquier tipo de semilla y de frutas (34).

3.1.1. PROCESO DE POLINIZACIÓN

Las abejas son los polinizadores más eficientes y los únicos confiables, ya que, al recolectar el néctar y el polen de las cosechas, no destruyen la flor o la planta en el proceso. Por tal razón, la agricultura moderna ha llegado a depender en gran medida de las abejas para satisfacer sus necesidades de polinización (34). **(Figura 2).**



FIGURA 2. Esquema del efecto de la polinización sobre la producción de frutos; Tomada de “Sistema de Información de Gestión y Desempeño de Organizaciones de Cadenas – SIOC” (5). Modificada por investigadora.

Las abejas melíferas son insectos polinizadores altamente eficaces, ya que generan un beneficio mutuo al recoger las sustancias nutritivas de las flores y, con la polinización, garantizar la provisión de plantas y alimentos disponibles para futuras generaciones de abejas y personas; lo cual representa una simbiosis perfecta (35), además de tener grandes cualidades:

- Tienen el cuerpo cubierto de pelos con los cuales recoge fácilmente miles de gránulos de polen cuando se mueven al interior de las flores.

- En una sola jornada una abeja puede visitar miles de flores de una misma especie, recogiendo el néctar y el polen y esparciendo interminablemente los gránulos de polen por todas las flores.
- Cada abeja recoge la cantidad suficiente de polen para su propio alimento y también para las necesidades de la colonia
- Los productos generados de la apicultura producen ganancias y desarrollo en varios sectores
- Se pueden generar bienes usando productos derivados de la miel, la cera de abeja, etc.; tales como velas, ungüentos para la piel y cerveza (35).

3.1.2. ORGANIZACIÓN DE LAS COLMENAS

Las abejas africanizadas, *Apis mellifera*, son las más comunes, ya que poseen un mayor nivel de adaptabilidad a diferentes climas y tiene la mayor tasa de reproductividad y trabajo, debido a la organización social dentro de su comunidad (reina, zángano, y obrera). (Figura 3)



FIGURA 3. Taxonomía de las abejas *Apis mellifera*; Tomada de: Nuevas moléculas de uso farmacéutico a partir de Veneno de *Apis Mellifera* (36).

El proceso reproductivo de las abejas melíferas, comienza por la abeja reina, quien es la encargada de poner los huevos, luego está la abeja obrera, que además de cuidar a la reina, está encargada de alimentar a las crías de tres días con el néctar recogido esperando que alcancen su tamaño normal a los

cinco días para que también comiencen su trabajo como abejas obreras, recolectando néctar y polen para la posterior elaboración de la miel, mediante la combinación de sustancias propias que posteriormente almacenan y dejan madurar en las colmenas. Las abejas obreras, además, deben construir y limpiar la colmena hecha en cera, en donde termina su proceso de maduración. El zángano, por otra parte, solo tiene la función de aparearse con la reina (32).
(Figura 4)

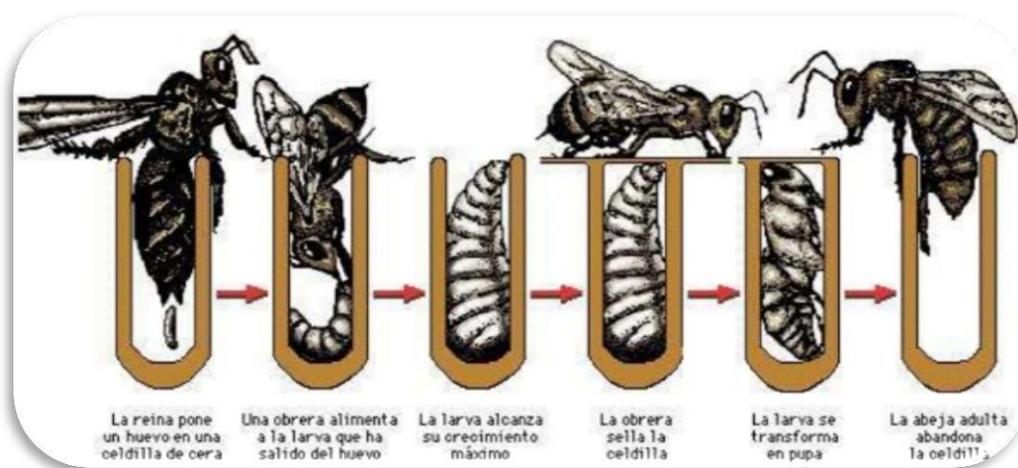


FIGURA 4. Ciclo de vida de la abeja; Tomada de: El ciclo de vida de la abeja del huevo al imago (37).

3.1.3. SIMBIOSIS ENTRE LA POLINIZACIÓN Y LOS CULTIVOS

Aunque no todos los cultivos necesitan polinización, debido a que algunas flores son autopolinizadas, es decir, el polen se transfiere de la antera al estigma de la misma flor o flores en la misma variedad de planta gracias al viento o la lluvia; los insectos polinizadores por medio de la polinización cruzada extienden el polen más fácil y eficientemente (34), lo que significa mejoras en las cosechas hasta de un de 30-40%, y representa un medio de ingresos para poblaciones desfavorecidas (32).

Dicha polinización cruzada está mediada por un proceso en el cual, el polen se transfiere de la antera al estigma de una flor en una variedad de planta

diferente, gracias al portador de polen más importante y eficiente, las abejas (35), las cuales: (**Figura 5.**)

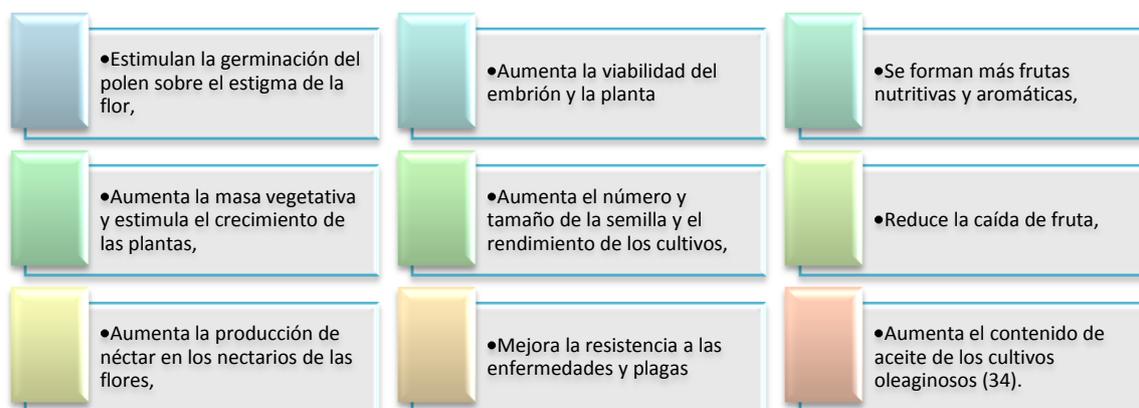


FIGURA 5. Beneficios que produce la Polinización Cruzada; tomado de Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production (35); modificada por investigadora.

3.2. FACTORES INFLUYENTES EN LA DISMINUCIÓN DE ABEJAS

Cabe aclarar que hasta la fecha no existe un solo factor claro que explique la pérdida de colonias en las abejas, ya que las abejas melíferas están expuestas a contaminación directa o indirecta y a una variedad de factores que pueden influir en la vitalidad de una colonia y debilitar sus capacidades reproductivas (38,11). Sin embargo, se les atribuye las pérdidas a los siguientes factores:

3.2.1. AGROQUÍMICOS

La exposición de las abejas a los plaguicidas químicos se da por dos vías:

- Primero, exposición oral por medio del contacto de su probóscide con el polen, el néctar y las gotas de agua exudadas por las plantas contaminados con agroquímicos, que al ser ingeridos llegan al “estomago” del insecto, donde los residuos de plaguicidas son más propensos a ser absorbidos y metabolizados, ocasionando efectos adversos en los polinizadores. De hecho, la exposición a plaguicidas aumenta durante la producción de pan de abeja desarrollado por las abejas obreras, ya que estas deben romper las bolas de polen recién recolectadas y mezclar el polen con saliva y miel, para posteriormente empaquetarla en las células con la mandíbula y la lengua y tapanla con cera para su uso posterior como fuente principal de proteína para la colonia (39).
- Segundo, por contacto físico, en el que los residuos se encuentran en los productos de la abeja, afectando también a los descendientes de la colmena, aunque al no tener una exposición directa como las abejas forrajeras es reducida la cantidad transferida a la colmena, esta solo se puede dar a través del polen, ya que es el único que transportan externamente (39).

Los agroquímicos encuentran fácilmente su camino hacia los suelos, donde son tóxicos para: artrópodos, lombrices, hongos, bacterias y protozoos vitales para el ecosistema, al descomponer la materia orgánica, además de, "arreglar" el nitrógeno haciéndolo disponible para las plantas y el ecosistema (10). Adicionalmente, se ha demostrado la presencia de más de 150 plaguicidas en colonias de abejas, los cuales se acumulan y generan factores estresantes que impiden el correcto desempeño de las abejas y su efectiva polinización (40).**(Tabla 1)**

Tabla 1. Clasificación de los agroquímicos y su efecto en las abejas

Tipo de químico o ingrediente activo	Toxicidad	Clase	Acción	Residualidad	Efecto en las abejas
Organofosforados: Clorpirifós	II	Insecticida	Alteración de los mecanismos inmunes, siendo así más fácilmente parasitado, retrasa el desarrollo de las larvas, altera su comportamiento, y disminuye su desarrollo (41).	Altamente toxico para abejas TRE: 4-6 días en concentraciones emulsificadas TR: <2 horas	Contaminante común de la cera de abejas, lo cual sugiere una relación con la desorientación de las mismas (11,7). contaminación polen y néctar, lo relaciona con el síndrome del colapso de las colonias (42)
Imidacloprid	II	Insecticida	Suprime el sistema inmune, lo cual se ve reflejado en una mayor incidencia del patógeno microsporidio <i>Nosema ceranae</i> , en el intestino medio de la abeja	Altamente toxico para abejas TRE: >1 día TR: <8 horas	Es usualmente utilizado como un insecticida sistémico, encontrado en polen y néctar de plantas (11).
Glifosato	I	Herbicida	Afecta en particular a las plantas vasculares, específicamente al metabolismo de las auxinas interfiriendo en la síntesis Del ácido 3-indolacético, importante como promotor de crecimiento en las plantas	Persistente de 14 a 22 días En el medio y afecta la calidad del agua	Causa una menor sensibilidad a la recompensa y una reducción de la dinámica de adquisición de polen y néctar (11).
Cumafos		Plaguicida	Inhiben la acetilcolinesterasa. Afectan irreversiblemente el sistema nervioso		Y su combinación perjudica el aprendizaje y memoria olfativa (11).
Piretroides		Insecticida	Alterar la apertura y cierre de los Canales de sodio dentro de la célula nerviosa, dejando al final este canal constantemente abierto, Lo que altera la transmisión de señales eléctricas de las células neuronales. Afecta el sistema nervioso		Pérdida de movimiento y coordinación de las abejas ocasionando parálisis y convulsiones (11).
Neonicotinoides: thiamethoxam, imidacloprid, clothianidin, thiacloprid	II	Insecticida	Insecticida neurotóxico. Actúan como agonistas de los receptores nicotínicos de la acetilcolina de los insectos (nachr) y tienen propiedades sistémicas, por medio del xilema y floema se distribuye a todos los tejidos vegetales (6)	Altamente toxico para abejas TRE: 7-14 días (Tiametoxam) TRE: >1 día TR: <8 horas (imidacloprid)	Afecta el sistema nervioso central, deterioro de la conducta y alteraciones morfológicas y fisiológicas de las abejas (43). Mortalidad por la inducción de las enzimas de desintoxicación, generando un factor estimulante de estrés (38). Aun en dosis recomendadas causan gran mortalidad (44)
Piraclostrobina		Fungicida	Alteración del sistema inmune		Aumenta la susceptibilidad al parásito <i>Nosema</i> y a los ácaros (9).

TR: Toxicidad Residual TRE: Toxicidad Residual Extendida

TABLA 1. Tomada de “Exposición y efectos de los pesticidas en las abejas: Situación actual y normativa en Colombia” (11); modificada por investigadora.

En general los efectos subletales que generan estos agroquímicos en las abejas, son:

- Alteración en la memoria de las abejas y la sensibilidad sensorial, necesaria para la detección de alimento y el retorno a la colmena;
- Incapacidad de las abejas obreras para coordinar en sus tareas, afectando el rendimiento de la colonia;
- Alta sensibilidad a los pesticidas, debido al bajo número de genes que codifican enzimas de desintoxicación;
- Acortamiento de la vida, supresión del sistema inmune y pérdida de peso;
- Mutaciones en la descendencia, alteraciones en las tasas de fecundidad, cambios en el comportamiento de ovoposición y efectos nocivos en los tiempos de desarrollo (11).

En Colombia el uso de agroquímicos aumento de tal manera que tan solo para el año 1993 estaban registrados un total de 674 plaguicidas que irrumpieron en las mejores tierras con alto potencial de productividad física y de trabajo. Allí, al no tener en cuenta las especificidades de algunos entornos y ecosistemas, fueron gravemente afectados por tales sustancias toxicas, que se habían desarrollado para otras condiciones y necesidades (21). Fue tal el daño tan notorio durante la década de los 90's ocasionado por los insecticidas utilizados en la agricultura, que afecto aproximadamente al 20% de las colonias de abejas a nivel mundial (10).

Los agroquímicos más usados y estudiados en Colombia son los neonicotinoides, debido al enorme poder tóxico de la nicotina. Su acción esta mediada por la unión a los receptores colinérgicos del sistema nervioso central de los insectos (nachr - receptores de acetilcolina nicotínicos de las neuronas), y la hiperexcitación neuronal (10). **(Figura 6)**

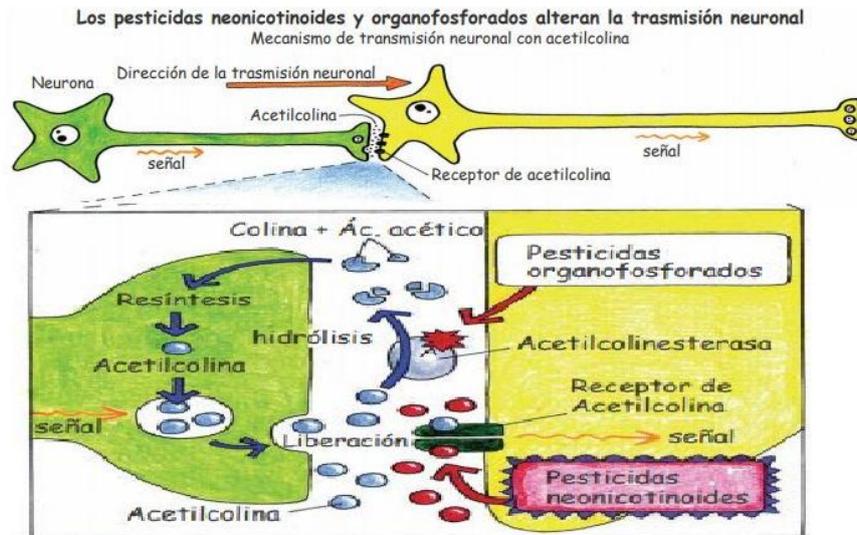


FIGURA 6. Mecanismo de afectación neuronal de los pesticidas; Tomado de: Descripción De Abbin (Bayer) Del Mecanismo De Acción De Los Neonicotinoides (45)

Las moléculas de los neonicotinoides se absorben rápidamente en el intestino medio después de la ingestión de alimentos contaminados y alcanzan la hemolinfa. A su vez, la hemolinfa ingresa en el vaso dorsal por el ostiole y se bombea rápidamente hacia el cerebro, donde las moléculas actuarán y llevarán al insecto a la muerte a través de la hiperexcitación neuronal; afectando la distribución, búsqueda de alimento y la supervivencia en las abejas melíferas. Al aumentar la tasa de mortalidad del trabajador, afecta el rendimiento de la colonia debido a la división del trabajo, lo que conlleva a una rápida pérdida de la población adulta en la colmena que impone un colapso total de la colonia (6).

El sistema inmune de larvas y pupas, que son el blanco de dichos insecticidas, tratan de incrementar la actividad de la acetilcolinesterasa (ache), para compensar la activación permanente de las neuronas colinérgicas debido a la fuerte unión de dichas sustancias tóxicas a los receptores nicotínicos de acetilcolina (nachr); aumentan la glutatión-S-transferasa (GST) y la carboxilesterasa (caep), que son las enzimas involucradas en la desintoxicación (43).

2.2.2. PATÓGENOS Y PLAGAS

Se ha evidenciado que *Varroa destructor* junto con *Nosema ceranae*, son los causantes de transmitir virus patógenos a las abejas, como: el virus de alas deformadas (DWV), el virus de la parálisis aguda de las abejas, el virus de la parálisis aguda israelí y el virus de la abeja de Cachemira, los cuales producen graves reacciones, inclusive, hasta su muerte (46).

2.2.3. SELENIO

Se ha evidenciado que el selenio, en dosis subletales también tiene efectos sobre el comportamiento, pueden afectar la capacidad de las abejas melíferas de funcionar como polinizadores de diversos cultivos que dependen de ellos para una buena productividad, de recolectar recursos para la colonia y de cuidar y mantener una colonia saludable (47).

2.2.4. IMPLICACIONES AMBIENTALES Y ECOLÓGICAS:

La exposición a peligros ambientales y el contacto libre de las abejas melíferas con polinizadores nativos silvestres, permite el intercambio de patógenos y tienden a afectar a las colmenas (46).

Por el contrario, los estresores ecológicos como el calor y desafíos inmunes ambientales, si han tenido respuesta por parte de las abejas, y establecieron una disminución en el vg (vitelogenina – vg, que tiene función protectora contra el estrés oxidativo, es una proteína que transporta zinc, en la hemolinfa actúa como catalizador, es un ión estructural y regulador) y un aumento en los genes jhe (hormona esterasa juvenil – jhe, implicada en la degradación de la JH, que coordinan cambios fisiológicos y de comportamiento asociado con el reparto de las labores en función de la edad, glándulas endocrinas asociadas al cerebro de los insectos que favorece el desarrollo de las características juveniles.) (31).

Igualmente, dicha respuesta inmune tiende a implicar una reducción del metabolismo energético que afecta a sus crías y por tanto a las futuras abejas recolectoras (31).

2.2.5. INTENSIFICACIÓN DE PRODUCCIÓN

La creciente demanda de servicios de polinización para cultivos comerciales y la creciente competencia de mercados internacionales de miel, también generan disminución de estos polinizadores que, además, presentan escasez en: regulaciones sobre su manipulación, pruebas de enfermedades y tratamientos, e inspección de su salud y bienestar (46)

2.2.6. PÉRDIDA DE HÁBITAT

Los polinizadores requieren determinados recursos para anidar, alimentarse y reproducirse, necesitan una vegetación y condiciones del hábitat específicas, con la aplicación de buenas prácticas de gestión en el uso de tierras. Se ha evidenciado que incluso en condiciones naturales, hay una escasez de polinizadores, lo cual indica que el déficit de polen en zonas de intensa influencia humana, como las explotaciones agrícolas y los bosques fragmentados, podría constituir una limitación, ya que hay baja reproducción de las plantas debido al clima, infertilidad de los suelos y enfermedades (48).

3.3. CULTIVOS DE CAFÉ

3.3.1. GENERALIDADES DE *Coffea arabica*

Coffea arabica L. es actualmente la principal especie del género, y constituye más del 60% del café que se comercializa en el mercado internacional, además de ser el más vulnerable a plagas y enfermedades. En Colombia las plantaciones están concentradas en altitudes que oscilan entre los 1200 y los 1800 m.s.n.m. y a temperatura de 18-23 °C (49). Están ubicadas en 590 municipios en 19 departamentos de Colombia apoyados por la Federación

Nacional de Cafeteros, los cuales buscan fortalecer esta actividad económica, enfocada en el fitomejoramiento para obtener una alta productividad y calidad de los frutos, principalmente de la variedad *Coffea arabica*, la variedad que más predomina en el paisaje de las zonas cafeteras colombianas (14).

La variedad *Coffea arabica*, pertenece a la familia Rubiáceas (*Rubiaceae*), la cual tiene alrededor de 500 géneros y más de 6000 especies, de los cuales *Coffea arabica* y *Coffea canephora* son los principales géneros de vocación cafetera, son de origen tropical y de polinización autónoma (**Figura 7**).



FIGURA 7. Taxonomía variedades del género *Coffea*; Tomado de: Contabilidad agrícola y ganadera del Cultivo de café (50).

Taxonómicamente, las plantas del género *Coffea* se caracterizan por la hendidura en la parte central de la semilla, se puede encontrar como pequeños arbustos o como árboles de más de 10 m, que pueden llegar a vivir hasta 200 años. Sus flores son completas (en la misma flor se encuentran todos los órganos) son blancas y tubulares; y los frutos, son cerezas con dos semillas dentro. Por lo general un árbol puede producir entre 1-12 libras de café por año o más. (49).

La flor del cafeto es hermafrodita, está conformado por: anteras largas (órganos masculinos), contienen granos de polen tan pequeños como polvo fino, de los cuales solo son necesarios dos para fertilizar sus dos óvulos. Y el estigma (órgano femenino), que recibe los granos de polen que envía hasta los

dos óvulos que se encuentran en el ovario (51,27). El estigma es receptivo cuando una flor se abre al amanecer, las anteras desaparecen poco después. Alrededor de la base del pistilo están los órganos que segregan el néctar (52). **(Figura 8)**

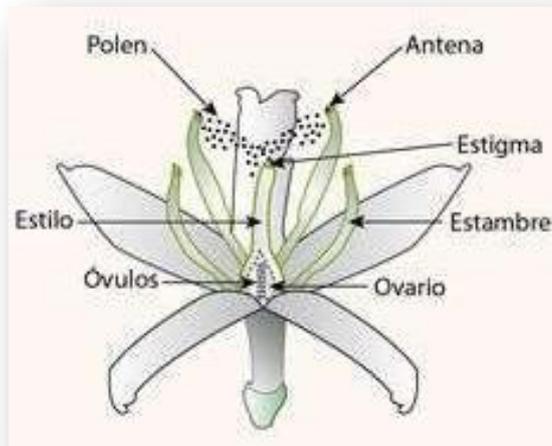


FIGURA 8. Autopolinización; Tomada de: Autopolinización y polinización cruzada (53)

Los granos de café son semillas de los frutos llamados cerezas, las cuales están compuestas por el exocarpio, (cubierta exterior) que determina el color, el mesocarpio, (goma rica en azúcares adherida a las semillas); el endocarpio (capa amarillenta que cubre cada grano), la epidermis, (capa muy delgada como película plateada); y el endosperma (granos o semillas) (49). **(Figura 9)**

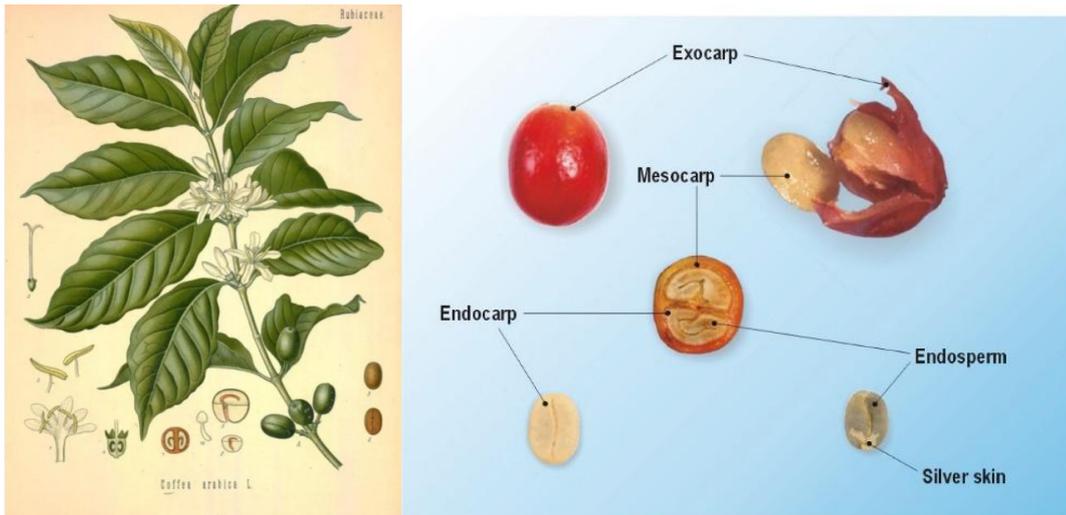


FIGURA 9. Características de los granos de *Coffea*; Tomado de: Federación Nacional de Cafeteros en Colombia (49)

La cosecha del café depende la estacionalidad de las floraciones, en el caso de Café Arábica, ocurre entre los 210-224 días después de que la planta sufre stress hídrico seguido de lluvias, que inducen las floraciones. Con lluvias marcadas las floraciones son más concentradas y, consecuentemente, las cosechas también lo son, teniendo frutos cada tres meses. Sin embargo, en Colombia se tienen diferentes ciclos de precipitación que generan floraciones continuas, generando frutos maduros, sobremaduros y un poco inmaduros, durante 50 de las 52 semanas que tiene el año. La recolección de frutos maduros en Colombia debe hacerse manual, ya que trae grandes ventajas al obtener calidad superior en los frutos, pues se evita la mezcla de frutos en diferentes estados de maduración, que afecta la calidad física y organoléptica del café (49).

3.3.2. PROPIEDADES DE LOS CULTIVOS DE CAFÉ

Con respecto a las propiedades físicas del Suelo de los cultivos de café, deben presentar:

- Color negro que indica un buen contenido de materia orgánica
- Textura de los granos: debe ser franca, es decir, en proporciones iguales, de tipo granular, para resistir la erosión, con facilidad para trabajarlos, y para el crecimiento y penetración de las raíces.

- Porosidad y permeabilidad: que permitan la circulación de agua y aire a través de los poros del suelo.
- Profundidad efectiva: que las raíces penetren fácilmente en busca de agua y alimento, y logren penetrar hasta 80 centímetros, para que se desarrolle el cafeto.
- Propiedades químicas del suelo:
 - pH: 5 - 5.5. Valores por debajo de 5 o por encima de 5.5, dificultan la nutrición del cultivo.
 - Fertilidad: Los elementos nutritivos del cafeto requiere en mayor cantidad: Nitrógeno, Fósforo y Potasio. Y en menor cantidad: Calcio, Magnesio, Azufre, Hierro, Zinc, Manganeso, Boro y Cobre. La carencia de alguno de estos nutrimentos afecta el normal crecimiento, desarrollo y producción potencial, tanto en calidad como en cantidad de café. Un suelo que presente mediana a baja fertilidad se puede mejorar con la aplicación de fertilizantes.
 - Materia orgánica: La pulpa de café descompuesta aporta materia orgánica a los suelos. Mejora las condiciones físicas del suelo, favorece la retención de humedad y es el principal sustrato para el desarrollo de pequeños organismos. Los suelos buenos para cultivar café deben tener contenidos de materia orgánica mayores al 8% (49).

3.3.3. BENEFICIOS DE LAS ABEJAS EN LOS CULTIVOS DE CAFÉ

Aunque las especies de cultivos de café son autopolinizadas, la cosecha cambia en relación con el grado de beneficio que recibe, por ejemplo, por medio de la polinización cruzada hay: mayor producción de néctar por parte de las flores de los cafetales, mayor producción de miel que favorece a los apicultores, aumento en la producción (número de granos por planta) y calidad de las semillas (mejor peso y aroma), y en caso de florecimiento precoz estas flores producen semillas, dando como resultado una cosecha temprana (35).

La blancura de la flor les indica a los polinizadores que ésta produce gran cantidad de polen (mientras que las rosadas y azules segregan néctar). Por otro lado, el néctar es proveído por el cafeto en sus flores tan pronto como el polen está maduro, este néctar es depositado en el fondo de los pétalos de modo que, para alcanzarlo, la abeja tiene que rozar los pelos de sus patas con el polen. Las abejas al encontrar néctar y polen en una flor, visitan en seguida otra de la misma clase, y así sucesivamente va efectuando la polinización cruzada (51,27). **(Figura 10)**



FIGURA 10. Abejas en cafetales; Tomado de: Agroforestería en las Américas (54)

Se ha demostrado que el desempeño del café (*Coffea arabica*), se ve mejorado entre un 15-50% con la polinización cruzada (55). Sus semillas y frutos presentan: mayor peso, mayor diámetro (con autopolinización el diámetro es de 1,34 cm, mientras que con polinización es de 1,61 cm), 20% más de frutos (formación inicial de frutos autopolinizados alcanza el 45 % y con polinización cruzada 75%), mejor calidad del grano de cerezo, 27% menos de frutillas deformes y mantiene los procesos reproductivos en los ecosistemas naturales y mayor concentración de azúcares, o grados brix, lo cual mejora el sabor y el aroma de los granos de café, un mayor éxito en términos de productividad (14,27).

Según expertos, las abejas *Apis mellifera*, *Trigona tubiba* y *Oxytrigona mellicolor*, las más frecuentes en flores de café que crecen bajo la sombra de árboles, ayudan a mejorar la fecundidad y preservan la diversidad genética de bosques tropicales cercanos, además, ofrecen excelentes condiciones de

hábitat, al disminuir el uso de pesticidas y fertilizantes, porque aprovechan la descomposición de las hojas de los árboles que las cubren (28,16).

3.3.4. PLAGAS

Las principales plagas del cultivo de café, que representan un gran impacto económico, son: la broca, *Hypothenemus hampei*; el minador de la hoja, *Leucoptera coffeellum*, y la palomilla de las raíces, *Dysmicoccus spp.*

La broca del café, *Hypothenemus hampei*:

Ha sido la plaga más dañina de los cultivos de café, ya que ataca directamente los frutos y ocasiona grandes pérdidas. Inicia su ataque en los frutos verdes del cafeto, entre los 3 y 4 meses después de la florescencia. Es difícil eliminarlo ya que permanece protegido la mayor parte de su vida en el interior de los frutos, ataca, perfora y daña los granos, para alimentarse de las almendras del café. Algunos métodos que se han adoptado para su control, son: la recolección oportuna de los frutos en el momento de su maduración y el control biológico con la utilización de avispas y de hongos. Las avispas que buscan dentro de los frutos y se comen parte de la población de la broca, y el hongo, que es un moho blanco que se espolvorea en los cafetales, para que mate parte de la población de la broca al entrar por los canales que esta misma ha excavado (49). **(Figura 11)**

La broca: *Hypothenemus hampei*

Clasificación científica	
Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Orden:	Coleoptera
Suborden:	Polyphaga
Superfamilia:	Curculionoidea
Familia:	Curculionidae
Subfamilia:	Scolytinae
Género:	<i>Hypothenemus</i>
Especie:	<i>H. prolixus</i>
Nombre binomial	
<i>Hypothenemus hampei</i>	



FIGURA 11: Taxonomía de *Hypothenemus hampei*; Tomado de: La palomilla de las raíces: *Dysmicoccus spp* (56).

El minador de la hoja, *Leucoptera coffeellum*:

Plaga muy dañina y monófaga, que ataca solo al género *Coffea* durante su estado larval, puede llegar a consumir entre 1 a 2 cm² de hojas, y al agruparse varias de ellas, pueden llegar a causar necrosamiento en el 90% de la planta. Se controla con enemigos naturales que surgen en los periodos lluviosos: neuróptera *Crysopa sp.* y las avispas *Polistes* y *Polibia*, así como varios parasitoides, como *Closterocerus coffeellae*, *Horismenus sp* y *Tetrastichus*, entre otros (49). **(Figura 12)**



FIGURA 12: Taxonomía de *Leucoptera coffeella*; Tomado de: Cultivo Del Café (57)

La palomilla de la raíz:

Las principales especies son: *Dismicoccus alazon*, *D. brevipes* y *D. criptus* que generalmente están asociadas con el hongo *Septobasidium* y las hormigas del género *Solenopsis*. Afectan el cuello de la raíz de las plantas causando marchitamiento generalizado, y en el campo su población aumenta y es cuidada por las hormigas. En muchos casos es mejor sustituir los árboles atacados, aunque se puede evitar aplicando sobre el cuello de la raíz: un

insecticida de baja toxicidad, al 0.2% y un aceite agrícola al 1,0% (49). **(Figura 13)**

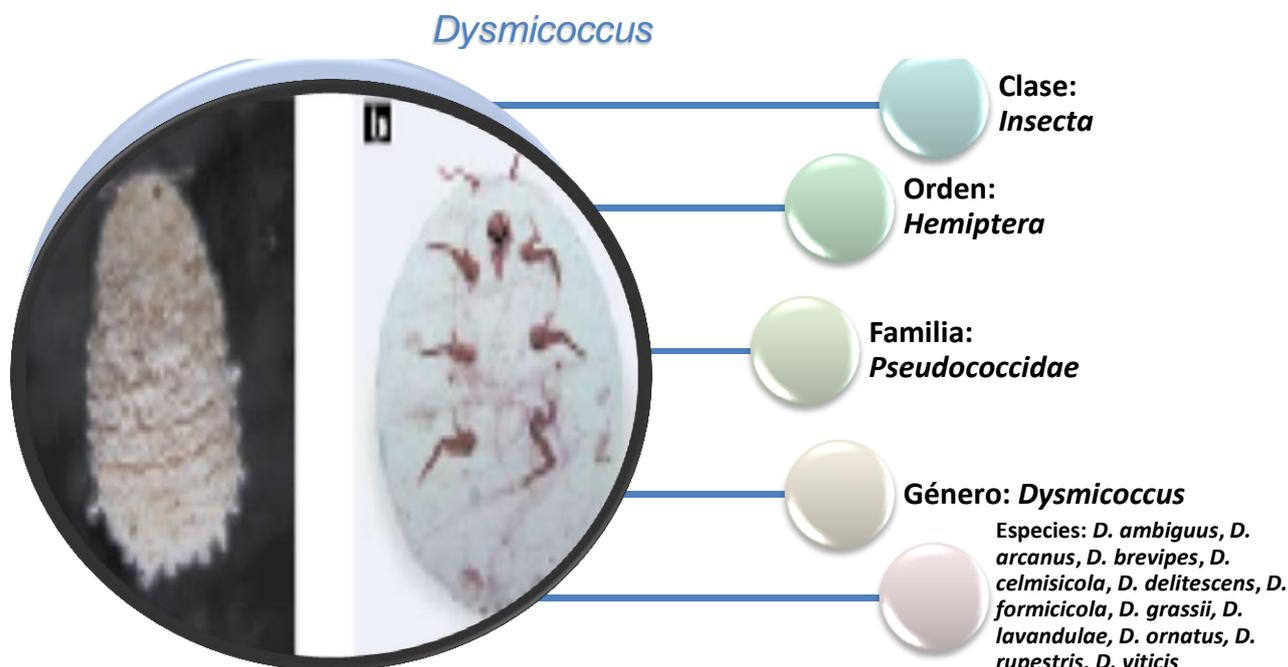


FIGURA 13: Taxonomía de *Dysmicoccus*; Tomado de: Identificación y hábitos de Cochinillas Harinosas asociadas a raíces del café en Quindío (58). Modificado por investigadora

3.4. *Hypothenemus hampei*

3.4.1. CARACTERÍSTICAS

La broca del café (CBB), *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleóptera: Scolytidae) es el insecto plaga más importante que afecta el cultivo del café no solo en Colombia, sino en casi todos los países productores de café causando pérdidas cuantiosas a los cultivadores. Es originaria de la zona ecuatorial de África probablemente de Etiopía, e introducida accidentalmente al continente americano en Brasil, a principios del siglo pasado. (59)

En 1988 se detectó por primera vez en Colombia, en el Sur de Nariño, esta plaga ataca el fruto del café y puede reproducirse internamente en el endospermo, causando la pérdida total del grano y en muchos casos, su caída

prematura. Actualmente, se encuentra infestando cerca de 800.000 hectáreas de café y afecta el patrimonio de más de medio millón de familias cafeteras colombianas (60)

Inicialmente, la broca es atraída a los cafetales por el “olor” (metabolitos secundarios que produce el cafeto) y luego, por el color y la forma del fruto. Las brocas que llegan posteriormente, son atraídas, además de lo anterior, por las sustancias que producen los desechos fecales de las primeras, atrayendo a otras hembras. Las hembras tienden a agregarse al llegar a un cafetal y se concentran en ciertas ramas y árboles (59).

3.4.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

En un estudio realizado en Colombia para evaluar las poblaciones de la broca y su dispersión a cafetales vecinos, se encontró que el potencial de estados biológicos vivos de la broca era de 5,8 millones/hectárea y se observó que su reproducción continuaba aún después de tres meses de estar en el suelo, emergiendo del suelo la mayor cantidad de adultos de broca y triplicándose el porcentaje de infestación en los lotes vecinos (**Figura 14**). Esto implica que se tiene un flujo constante de brocas hacia los cafetales vecinos, lo que dificulta y encarece el control de la broca (60).

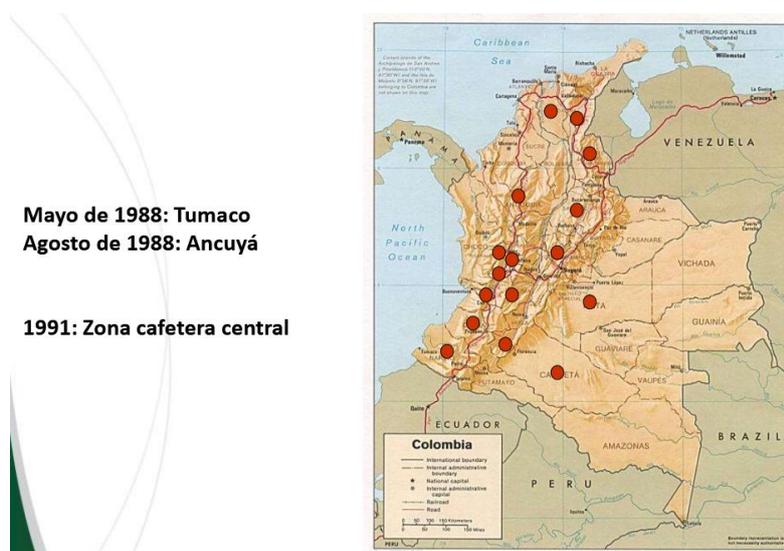


FIGURA 14. Dispersión de la Broca; Tomada de: La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) En Colombia (61).

3.4.3. CICLO DE VIDA

La hembra adulta una vez surge de la pupa está lista para aparearse, el macho al completar su ciclo de vida antes que la hembra, copula con las hembras que van emergiendo. El adulto macho de la broca solamente tiene función reproductora, es incapaz de perforar un fruto, es de menor tamaño y debido a que los músculos de sus alas se encuentran atrofiados no puede volar por lo que siempre se encuentra en el interior de los frutos. Una vez que la hembra colonizadora inicia su oviposición, permanece en el interior del fruto del café hasta su muerte, cuidando de su progenie (59). **(Figura 15)**



FIGURA 15. Ciclo de vida de la Broca; Tomada de: Estomatología Agrícola- Broca del café (62).

3.4.4. CONTROL DE LA BROCA

De acuerdo con la temperatura promedio de las regiones cafeteras y la dinámica poblacional de la broca del café, en relación con el desarrollo del fruto del cafeto, se comprobó que el insecto puede atacar los frutos desde la décima

semana de formados, cuando estos tienen menos del 80% de humedad, logran reproducirse. Cuando la broca inicia ataques a frutos inmaduros (120-150 días) el tiempo de exposición es muy prolongado, ya que ésta espera a que la consistencia del grano sea la adecuada para iniciar su oviposición, y es durante esta época que se debe efectuar el ataque contra esta plaga (59). **(Figura 16)**

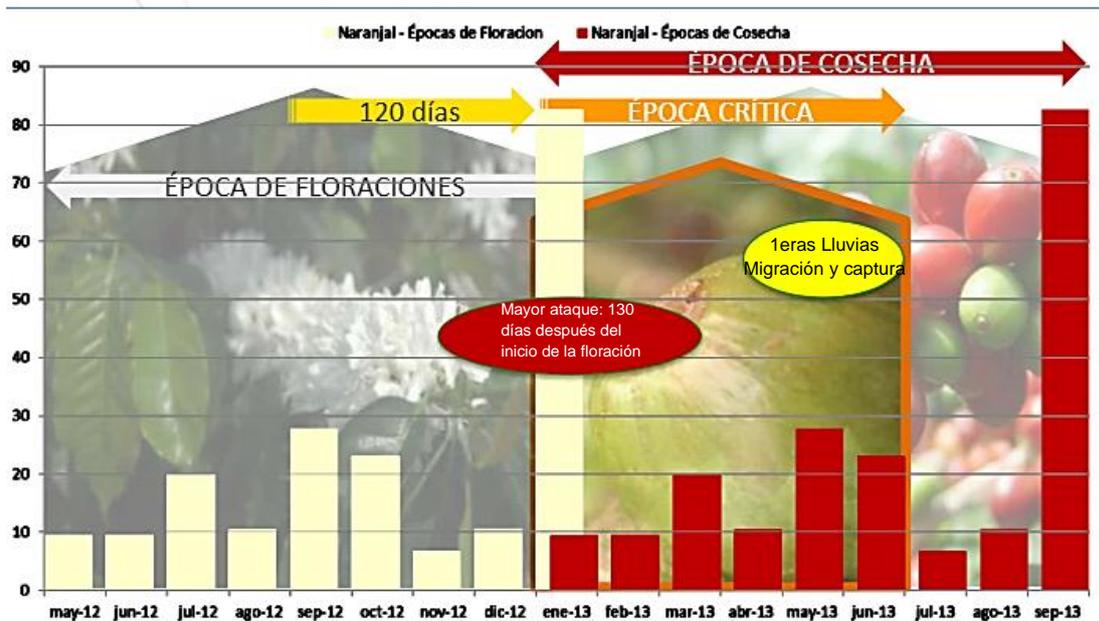


FIGURA 16. Época crítica para el control de la Broca del café; Tomada de: La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) En Colombia (61).

Entre los medios que se han utilizado para el control de esta plaga se encuentran los insecticidas, los cuales solo son eficaces cuando el insecto se encuentra penetrando el fruto, ya que una vez dentro, ningún insecticida químico puede ofrecer un control satisfactorio. Por otra parte, debido a las condiciones climáticas del cafeto en Colombia, la floración sucede en múltiples ocasiones, lo cual implica que muchos frutos sean susceptibles de ser atacados por la broca e involucra la aplicación continuada de insecticidas, como ya se ha evidenciado con el Endosulfán (59).

Lo anterior, ha generado la necesidad de incorporar métodos eficaces de control para combatir la broca, como lo son la introducción de enemigos

biológicos, como: los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, *Prorops nasuta* Waterston, *Phymastichus coffea* La Salle y el hongo *Beauveria bassiana* (Báls.) Vuillemin, los cuales ya se han venido considerando en el programa de control de la broca del café (59).

En Colombia se ha venido incursionando con los parasitoides *C. stephanoderis* y *P. nasuta*, como microorganismos de control biológico, la hembra del parasitoide *C. stephanoderis* penetra el fruto atacado por la broca, paraliza la hembra adulta de la broca que cuida la colonia, por último, se alimenta de los huevos, larvas y pupas. En cuanto a *P. nasuta*, ésta es más exigente, ya que prefiere casi exclusivamente las larvas de segundo instar (60).

Otro microorganismo de control biológico que se ha implementado es el hongo *Beauveria bassiana* que, además de ser eficaz en contra la broca permite estar al alcance del agricultor, quien también lo puede producir (16). Su infección está dada por la adhesión de las esporas sobre su revestimiento, éstas germinan y penetran mediante la producción de enzimas, posteriormente, el hongo invade la cavidad hemocélica del insecto y ocasiona su muerte debido a deficiencias nutricionales y destrucción de los tejidos por la liberación de toxinas; una vez el hongo ha crecido dentro del insecto sale de él a través de los tejidos destruidos y lo cubre con estructuras miceliales (**Figura 17**). Sin embargo, no puede estar en contacto con insecticidas, ya que estos disminuyen su potencial tóxico (63).

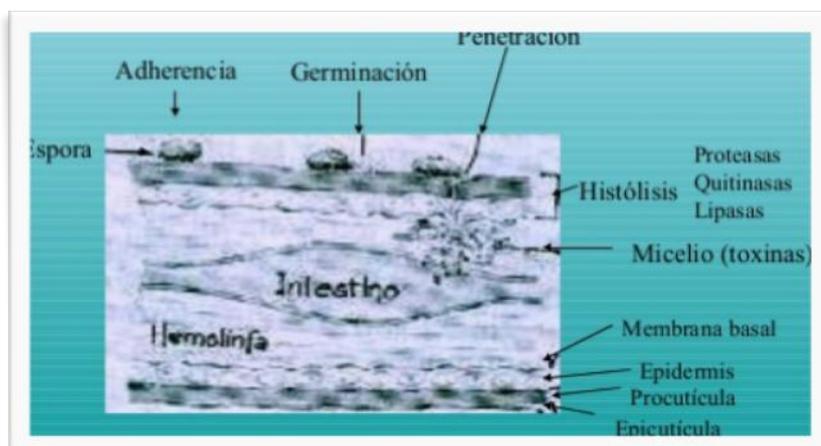


FIGURA 17. Acción entomopatígena de *Beauveria bassiana*; Tomada de: control Biológico - Ingeniería Ambiental (64).

3.5. GENERO *Bacillus*

3.5.1. GENERALIDADES

La familia *Bacillaceae*, es una de las familias bacterianas con mayor actividad bioquímica referenciada tanto para control biológico como para el uso de los productos de su metabolismo para la industria (65) (**Tabla 2**)

Tabla 2. Generalidades de *Bacillus spp*

<i>Familia</i>	<i>Bacillaceae</i>
<i>Morfología</i>	Bacilos aerobios y anaerobios facultativos, en la coloración de Gram, se observaron bacilos Gram positivos esporulados. Producen endosporas con morfología oval o cilíndrica que le permite resistir condiciones desfavorables en el ambiente.
<i>Bioquímica</i>	Son móviles por la presencia de flagelos laterales, son catalasa positiva, presentando hemólisis variable y un crecimiento activo en un rango de pH entre 5.5 - 8.5.
<i>Aislamiento</i>	En los medios primarios (Agar BHI, agar sangre y caldo BHI) en cuanto crecimiento se observan: cremosas, blanquecinas, grandes y uniformes. Presentan hemólisis variables (γ y β).
<i>Especies con propiedades antagónicas contra fitopatógenos</i>	<i>Bacillus brevis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. Sphaericus</i> y <i>B. Thuringiensis</i>

TABLA 2. Tomada de “*Bacillus spp.*; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos” (65); modificada por investigadora.

3.5.2. PRINCIPALES ESPECIES BIOCONTROLADORAS

Algunas cepas del género *Bacillus* tienen actividad biocontroladora sobre patógenos de plantas, además poseen un alto poder de adaptación a diversos ambientes mediante la formación de endosporas; estructuras resistentes frente a la falta de nutrientes y situaciones adversas. Las esporas poseen la

capacidad de diseminarse en el aire, por tanto, pueden migrar grandes distancias y ser ubicuas en el medio ambiente hasta encontrar las condiciones óptimas para su crecimiento. (65) **(Tabla 3)**

Tabla 3. Principales especies biocontroladoras

Microorganismo	Actividad	Método de acción	Organismo sobre el que actúa	Referencia	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Bioplaguicida	Toxinas proteínicas (Cry)	<i>H. hampei</i>	Méndez-López <i>et al.</i> (2003) (22).	
	Biolarvicida (con cristales parasporales)		<i>Culex, Anopheles y Aedes,</i>	Corrales Ramírez (26).	
		Cry1 (Cristal bipiramidal)	<i>Lepidópteros</i>	Sauka DH <i>et al.</i> (66)	
		Cry2 (Cristal cubico)	<i>Lepidópteros y Dípteros</i>		
		Cry3 (Cristal cuadrado aplanado)	<i>Coleópteros</i>		
		Cry4A, Cry4B, Cry10 y Cry11 (cristal esférico)	<i>Dípteros</i>		
<i>B. thuringiensis israelensis (Bti)</i>	Insecticida	Proteína Cyt, aumenta actividad tóxica y evita la aparición de resistencia	Coleópteros	Ibarra <i>et al.</i> (24)	
		Endotoxinas		Méndez-López <i>et al.</i> (22).	
	Larvicida	Toxinas viables aun en presencia de antihelmínticos	Nematodos gastrointestinales del ganado: <i>Trichostrongylides</i>	Berne Pinto <i>et al.</i> (30).	
<i>Bacillus thuringiensis tenebrionis</i>	Larvicida (larvas afectadas cambian de color, frecuentemente a negro-marrón)	Toxinas cristalinas	Coleópteros	Badii y Abreu (18).	
<i>Bacillus thuringiensis berliner</i>	Bioplaguicida en plantas transgénicas		Plagas	Van Driesche <i>et al.</i> (25).	
<i>B. sphaericus</i>	Biolarvicida (aislada por primera vez de larvas enfermas de <i>Culex</i>)		Sphaericolisina: producidas durante la fase vegetativa de la bacteria: toxinas: Mtx1 y Mtx2 y; Bin	Insectos plaga	Calderón Charria <i>et al.</i> (29) y Van Driesche <i>et al.</i> (25).
				<i>Tuta absoluta y Plutella xylostella</i>	Calderón Charria <i>et al.</i> (29)
<i>B. brevis</i>	Plaguicida, inhiben germinación de esporas	Péptidos antimicrobianos <i>Gramicidina S</i>	<i>Fusarium, Pythium, Phytophthora, Rhizoctonia, Sclerotinia, Septoria y Verticillium.</i>	Layton C <i>et al.</i> (65) y Sánchez Pila (19)	
<i>B. subtilis (EA-CB0015)</i>		Péptidos antimicrobianos (Iturin A y fengycin, surfactina)			

TABLA 3. Principales especies biocontroladoras; Modificada por investigadora.

3.5.3. TOXINAS

Toxinas proteínicas CRY

B. thuringiensis es capaz de producir una inclusión parasporal formada por uno o más cuerpos cristalinos de naturaleza proteica que son tóxicos para distintos invertebrados, especialmente para larvas de insectos. Estas proteínas se llaman Cry (del inglés, Crystal) y constituyen la base del insecticida biológico más difundido a nivel mundial (66).

El mecanismo de acción de las proteínas Cry se describió principalmente en lepidópteros como un proceso de múltiples etapas. Los cristales de *B. thuringiensis* son ingeridos y rápidamente solubilizados en el intestino medio del insecto, como este órgano favorece su activación por el pH alcalino, las proteínas cristalinas se liberan y forman protoxinas, estas a su vez gracias a las proteasas intestinales generan las toxinas activas, estas se unen a la cadherina, presente en la membrana epitelial, y se inserta en la membrana, agrupándose para formar un poro. Se inicia así una cascada de señalización dependiente del ion magnesio que es la responsable de la muerte celular, ya que estimula la exocitosis de la cadherina lo que conlleva a aumentar el número de receptores de toxinas libres, provocara un desequilibrio osmótico y, por último, lisis celular (66).**(Figura 18)**

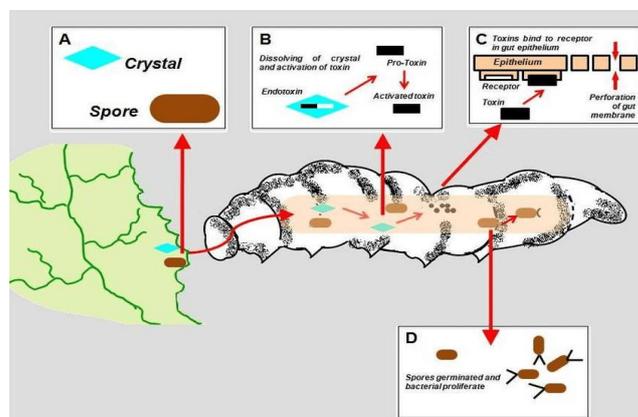


FIGURA 18. Mecanismo de acción de las proteínas Cry; Tomado de: Bacillus Thuringiensis: Soil microbial insecticide, diversity and their relationship with the entomopathogenic activity (67).

Toxinas Bin

La actividad biolarvícida de *B. sphaericus* está determinada por las Sphaericolisinas: toxinas Bin, las cuales son sintetizadas en una inclusión cristalina paraesporal como pro-toxinas (pro-BinA, pro-BinB), una vez *B. sphaericus* es ingerido por el insecto, el cristal se solubiliza por el pH alcalino del jugo gástrico y se convierten en pro-toxinas activadas BinA y BinB, las cuales se dirigen rápidamente a las células epiteliales del intestino medio del insecto, en donde se unen a un receptor específico. Para dar inicio a la actividad tóxica, la toxina BinB se va a unir al receptor de membrana intestinal, y a esta se va a anclar la toxina BinA. La toxina generada principalmente por BinA empieza a generar apoptosis en los enterocitos del insecto, lo que ocasiona una severa pérdida de electrolitos hasta llevar a la muerte del insecto (29).

3.5.4. LIPOPÉPTIDOS

B. subtilis es capaz de producir tres diferentes tipos de familias de lipopéptidos que actúan como potenciales biocontroladores, en las que se encuentran:

- Las Surfactinas, que pueden inducir resistencia sistémica y proliferar células bacterianas, colonizando así la rizosfera;
- Las Iturrinas, que tienen actividad antifúngica;
- Y, por último, las Fengicinas, que actúan contra los filamentos de los hongos, al hacer más permeable su membrana (19). Su acción esta mediada por la modificación de la permeabilidad de la membrana de las células diana, y la alteración en la composición de los lípidos de la membrana, formando pequeñas vesículas y partículas intramembranas, así, inhibe el crecimiento del micelio y el desarrollo de los hongos (65).

Por otro lado, *Bacillus cereus* produce la zwitermicina A, un antibiótico que suprime el crecimiento de hongos fitopatógenos y potencia la acción insecticida de las toxinas proteicas producidas por *B. thuringiensis* (68).

3.5.5. ENZIMAS LÍTICAS

B. subtilis produce lipasas, proteasas y β glucanasas que actúan sobre el hongo *Fusarium oxysporum*. Y *Bacillus cereus* produce quitinasas involucradas en el biocontrol de hongos fitopatógenos (68).

3.5.6. PLANTAS TRANSGÉNICAS Bt

En 1987 se desarrolló la primera planta transgénica con un gen Cry de *B. thuringiensis*, además de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) productoras de grandes cantidades de proteína Cry para controlar larvas. Desde entonces, diez tipos de genes cry se han introducido en al menos 26 especies vegetales: *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1Ba*, *cry1Ca*, *cry1H*, *cry2Aa*, *cry3A*, *cry6A* y *cry9C*. Las cuales permiten la reducción de insecticida, protección duradera, efecto solo en los insectos que se alimentan de estas plantas sin afectar a otros organismos benéficos, y, por último, un gran beneficio para la producción de alimentos y la calidad del ambiental. Sin embargo, podría generarse cierta resistencia y ya no se podrían emplear proteínas Cry para su control (68).

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo de Investigación

La investigación fue de tipo documental ya que se realizó una selección de información a partir de artículos, libros y diferentes estudios que establecen la capacidad controladora de *Bacillus* frente a insectos plaga y su beneficio en la disminución de sustancias tóxicas que afectan la salud de las abejas e impide su efectiva polinización.

4.2. Población de estudio

Documentos a nivel nacional e internacional que se basan en la capacidad controladora de *Bacillus* frente a insectos plaga y su beneficio en la disminución de sustancias tóxicas que afectan la salud de las abejas e impide su efectiva polinización.

4.3. Métodos

- **Búsqueda y revisión la información existente.**

Se realizó a partir del tema tratado en el actual escrito. Se revisaron 56 artículos científicos, tesis de grado, documentos de web y libros, en total, en las bases de datos: Pubmed, NOVA y la base de datos de la Universidad Nacional de Colombia, así como también, en el buscador “Google académico”, las cuales aportaron información para la construcción de la revisión documental.

- **Selección de las temáticas a partir del material bibliográfico consultado.**

En esta fase, de los documentos consultados se seleccionaron los temas principales, como lo son: los factores que disminuyen las colonias

de abejas en Colombia, los beneficios de la polinización en cultivos de café, manejo de cultivos de café en Colombia, el control de *Hypothenemus hampei* en cultivos de café, métodos de erradicación de plagas y la acción biocontrolador de *Bacillus*. Los cuales fueron el resultado de la combinación de las diferentes palabras clave: *Apis mellifera*, *Coffea arabica*, *Hypothenemus hampei*, toxicidad, *Bacillus*, biocontrol.

- **Organizar de forma lógica el documento.**

Una vez seleccionados los temas, se procedió a la organización cronológica del documento más antiguo al más nuevo y temática de la información considerando, con un intervalo de tiempo desde el año 2005-2017: Los factores que disminuyen las colonias de abejas en Colombia, los beneficios de la polinización en cultivos de café, el control de plagas de cultivos de café en Colombia, el control de *Hypothenemus hampei*, los métodos para erradicar plagas y la acción biocontroladora de *Bacillus*.

- **Análisis de la información.**

Para establecer la relación entre una relación entre la actividad entomopatogena de *Bacillus* para el control de *Hypothenemus hampei* en cultivos de café en Colombia, lo cual repercute en una polinización efectiva y en la buena salud de las abejas.

5. RESULTADOS

FASE 1. Búsqueda y revisión de la información.

Para la localización de los documentos bibliográficos se utilizaron varias fuentes documentales como: artículos científicos, documentos y libros que aportan la información necesaria para la construcción de la presente revisión documental, de las cuales la mayoría fueron artículos científicos. La búsqueda bibliográfica inicio en Agosto de 2017 en las siguientes bases de datos: Pubmed, NOVA y la base de datos de la Universidad Nacional de Colombia, así como también, en el buscador “Google académico” utilizando los descriptores: *Apis mellifera*, polinización, *Coffea arabica*, *Hypothenemus hampei*, toxicidad, agroquímicos, *Bacillus* y biocontrol. Los registros obtenidos oscilaron entre 855 y 1000 registros tras la combinación de las diferentes palabras clave, con resultados tanto a nivel nacional como internacional. De esta búsqueda se obtuvo 56 documentos, de los cuales se tomó como primera medida la pérdida de colonias de abejas melíferas, segundo, el efecto de agroquímicos en cultivos *Coffea arabica*, y tercero, información sobre la acción controladora de *Bacillus* frente a insectos plaga, como lo demuestra la **(Figura 19)**.

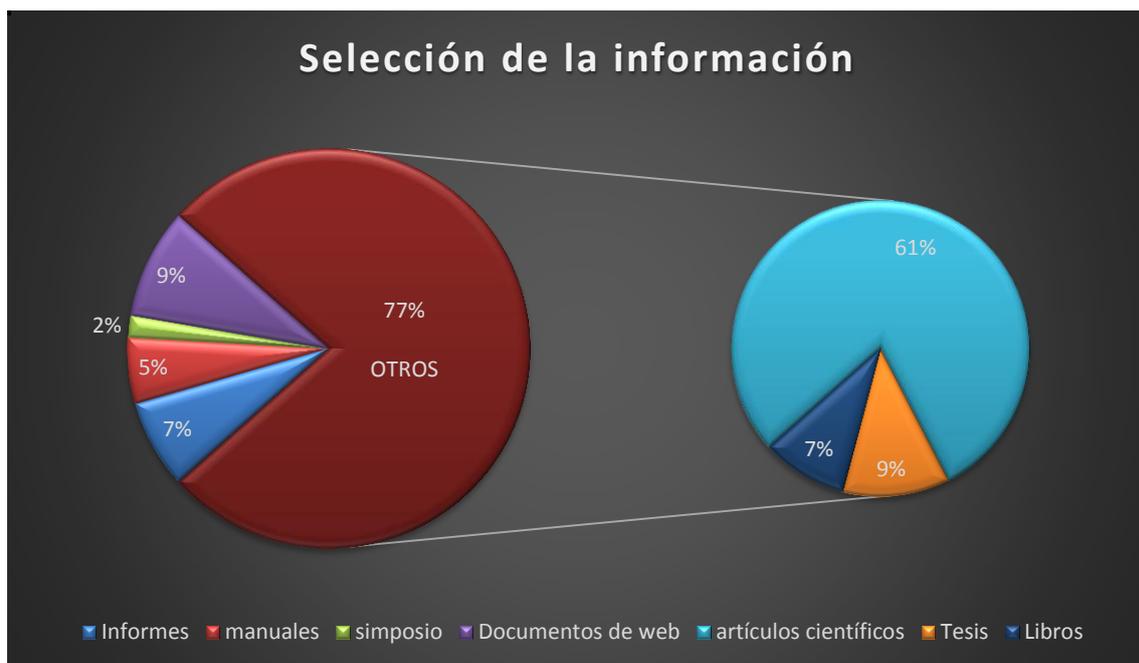


Figura 19. Selección de la información para el desarrollo del documento

Fase 2. Selección del material bibliográfico.

En esta fase fue pertinente concretar las ideas que surgen después del análisis de los documentos encontrados determinando los temas principales, como lo son: la actividad entomopatógena de *Bacillus* como microorganismo biocontrolador, el control de *Hypothenemus hampei* en cultivos de café y el efecto que causan dichos controladores en la disminución de colonias de abejas en Colombia. Se hicieron archivos en computador con la información obtenida para facilitar la lectura y organización del documento.

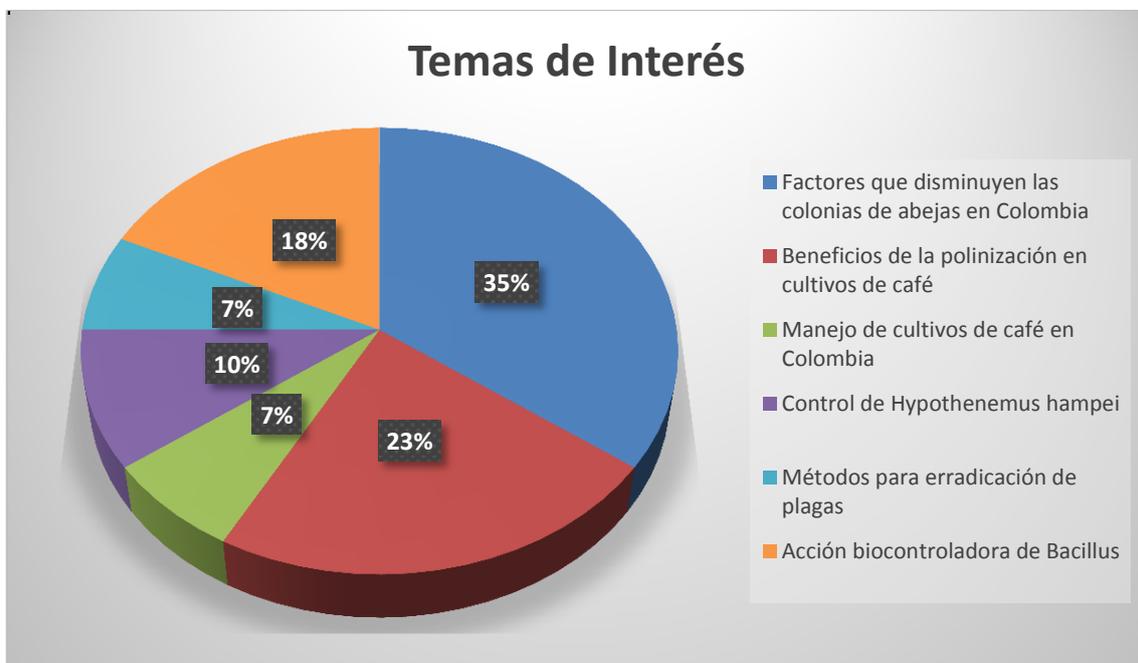


FIGURA 20. Principales temas de interés para el desarrollo del trabajo

En la **Figura 20** se relacionan los temas de mayor importancia durante el desarrollo de esta investigación documental donde se evidencia que: Los factores que disminuyen las colonias de abejas en Colombia (35%), los beneficios de la polinización en cultivos de café (23%) y la actividad biocontroladora de *Bacillus* (18%) son las que se encuentran con mayor frecuencia.

Fase 3. Organización lógica del documento

A continuación, se presenta una tabla del material documental seleccionado cronológicamente y por temas de interés. **(Tabla 4)**

Tabla 4. Material documental seleccionado

TEMA: Factores que disminuyen las colonias de abejas en Colombia		
TITULO	AUTORES	AÑO
Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States.	David Pimentel	2005
Exposure to pesticides at sublethal level and their distribution within a honey bee (<i>Apis mellifera</i>) colony.	Maja Ivana Smodiš Škerl, Veronika Kmecl, Aleš Gregorc	2010
Riesgo ambiental por el uso de agroquímicos.	Freddy Leonard Alfonso M., Inés Toro Suarez	2010
Diagnostico sobre la situación de los polinizadores abejas y polinización en Colombia	Universidad Nacional de Colombia.- Departamento de Biología	2011
Pathogens, pests, and economics: drivers of honey bee colony declines and losses.	Kristine M. Smith, Elizabeth H. Loh, Melinda K. Rostal, Carlos M. Zambrana-Torrel, Luciana Mendiola, Peter Daszak	2013
A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides	María Arena, Fabio Sgolastra	2014
Thiacloprid– <i>Nosema ceranae</i> interactions in honey bees: Host survivorship but not parasite reproduction is dependent on pesticide dose.	Gina Retschnig, Peter Neumann, Geoffrey R. Williams.	2014
Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: reported death incidents in honeybees. Science of the Total Environment.	Konstantinos M. Kasiotis, Chris Anagnostopoulos, Pelagia Anastasiadou, Kyriaki Machera	2014
Risk to Pollinators from the Use of Chlorpyrifos in the United States.	G. Christopher Cutler, John Purdy, John P. Giesy, Keith R. Solomon	2014
Evaluation of pesticide toxicity at their field recommended doses to honeybees, <i>Apis cerana</i> and <i>A. Mellifera</i> through laboratory, semi-field and field studies.	Johnson Stanley, Khushboo Sah, S.K. Jain, J.C. Bhatt, S.N. Sushil	2015
Organophosphorus insecticides in honey, pollen and bees (<i>Apis mellifera</i> Linnaeus) And their potential hazard to bee colonies in Egypt.	Yahya Al Naggar, Garry Codling, Anja Vogt, Elsaied Naiem, Mohamed Mona, Amal Seif, John P. Giesy	2015
Influence of pesticide use in fruit orchards during blooming on honeybee	Pau Calatayud-Vernich, Fernando Calatayud, Enrique Simó, María Morales Suarez-Varela, Yolanda Picó	2016
Diagnóstico de enfermedades	Boris Daniel Velásquez Gutiérrez,	2016

parasitarias en abejas africanizadas <i>Apis mellifera</i> en el municipio de Marsella, Risaralda, Colombia	Giovanni Andrés Vargas Bautista	
The impact of pyriproxyfen on the development of honey bee (<i>Apis mellifera</i> L.) Colony in field.	Yue-Wen Chen, Pei-Shan Wua En-Cheng Yang Yu-Shin Naia Zachary Y. Huang	2016
Acute exposure to selenium disrupts associative conditioning and long-term memory recall in honey bees (<i>Apis mellifera</i>).	Christina M. Burden, Christopher Elmore, Kristen R. Hladun, John T. Trumble, Brian H. Smith	2016
Exposición y Efectos De Los Pesticidas En Las Abejas: Situación Actual Y Normatividad En Colombia	Martin Culma, Nazly Yolieth	2017
Stress response in honeybees is associated with changes in task-related physiology and energetic metabolism	Célia Bordier, Séverine Suchail, Maryline Pioz, Jean Marc Devaud, Claude Collet, Mercedes Charreton, Yves Le Conte, Cédric Alaux	2017
Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotoxic system of the Africanized honeybee	Caio E.C. Domingues, Fábio Camargo Abdalla, Paulo José Balsamo, Beatriz V.R. Pereira, Moema de Alencar Hausen, Monica Jones Costa, Elaine C.M. Silva-Zacarin	2017
Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages	Daiana Antonia Tavares, Claudia Dussaubat, André Kretzschmar, Stephan Malfitano Carvalho, Elaine C.M. Silva-Zacarin, Osmar Malaspina, Géraldine Bérail, Jean-Luc Brunet, Luc P. Belzunces	2017
Weight of evidence evaluation of a network of adverse outcome pathways linking activation of the nicotinic acetylcholine receptor in honey bees to colony death.	Carlie A. LaLone, Daniel L. Villeneuve, Judy Wu-Smart, Rebecca Y. Milsk, Keith Sappington, Kristina V. Garber, Justin Housenger, Gerald T. Ankley.	2017

TEMA: Beneficios de la polinización en cultivos de café		
TITULO	AUTORES	AÑO
La apicultura y los medios de vida sostenibles	Nicola Bradbear	2005
Protección a los polinizadores.	(FAO) - Departamento de Agricultura y Protección del Consumidor	2005
La cadena de las abejas y la apicultura en Colombia.	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - Observatorio Agrocadenas Colombia	2006
Determinación de la producción de jalea real en colmenas de cría de diferentes dimensiones	Hugo Humberto Ballesteros y Rodrigo Efrén Vásquez	2007
Las abejas en los cafetales - Ecología y Polinización.	Jr FS.	2010

Sistema de Información de Gestión y Desempeño de Organizaciones de Cadenas - SIOC	Organización de la Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura en Colombia –CPAA	2011
Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production.	Dharam P. Abrol	2011
Efecto de las abejas silvestres en la polinización del café (<i>Coffea arabica</i> : <i>Rubiaceae</i>) en tres sistemas de producción en el departamento de Antioquia.	Alexander Jaramillo Delgado	2012
Abejas silvestres mejoran los cafetales.	Universidad Nacional de Colombia	2013
Valoración de abejas sin aguijón como polinizadores del café (<i>Coffea arabica</i> L.), naranja y mango, en sistemas agroforestales de Loja y El Oro, Ecuador.	José Ramírez, Vicente Ureña, Edmigio Valdivieso	2013
Aportes para el análisis del sector Apícola Colombiano	Sanchez OA, Castañeda PC, Muños G, Tellez G	2013
Principios y avances sobre polinización como servicio ambiental para la agricultura sostenible en países de Latinoamérica y el Caribe.	Pantoja, Alberto	2014
Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura.	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural	2015

TEMA: Manejo de cultivos de café en Colombia		
TITULO	AUTORES	AÑO
Lineamientos de Política Ambiental para el Uso y Manejo de Plaguicidas	Ministerio del Medio Ambiente - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.	1992
Economic value of tropical forest to coffee production.	Taylor H. Ricketts, Gretchen C. Daily, Paul R. Ehrlich, and Charles D. Michener	2004
Shade coffee farms promote genetic diversity of native trees.	ShaleneJha, Christopher W. Dick	2008
Manejo agronómico del cultivo de café.	Federacion Nacional de Cafeteros de Colombia.	2010

TEMA: Control de <i>Hypothenemus hampei</i>		
TITULO	AUTORES	AÑO
El papel del control biológico en el manejo integrado de la broca del café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari) (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae).	Alex Enrique Bustillo Pardey	2005
Experiencia cubana en el manejo agroecológico de plagas en cafeto y avances en la broca del café.	Luis L. Vázquez-Moreno, Instituto De Investigaciones De Sanidad Vegetal (Inisav)	2005

Eficacia de mezclas de cepas del hongo <i>Beauveria bassiana</i> en el control de la broca del café.	Cárdenas R., A.B.; Villalba G., D.A.; Bustillo P., A.E.; Montoya R., E.C.; Góngora B., C.E.	2007
Efecto de la cepa autóctona LBb-11 de <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Voill sobre <i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari en el municipio Fomento.	Rosa M Pérez León	2009
Nuevo producto en el Manejo Integrado de la Broca del Cafe en Colombia	Arcila Moreno A, Duarte Cano AF, Villalba Guott DA, Benavides Machado P	2013
Aspectos sobre la broca del café, <i>Hypothenemus hampei</i> , en Colombia.	Bustillo Pardey E.	2015

TEMA: Métodos para erradicación de plagas		
TITULO	AUTORES	AÑO
Los plaguicidas utilizados en los últimos cuarenta y cinco años en Colombia.	Gilberto Herrera Rojas y Henry Polanco Rodríguez	1995
Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos.	Jorge E. Ibarra, Ma. Cristina Del Rincón Castro, Enrique Galindo, Martín Patiño, Leobardo Serrano, Raymundo García, José A. Carrillo, Benito Pereyra-Alfárez, Andrea Alcázar-Pizaña, Hugo Luna-Olvera, Luis Galán-Wong, Liliana Pardo, Carlos Muñoz-Garay, Isabel Gómez, Mario Soberón, Alejandra Bravo	2006
Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control)	Badii, M. H. y J. L. Abreu	2006
Control de plagas y malezas por enemigos naturales	R. G. Van Driesche, M.S. Hoddle & T. D. Center	2007

TEMA: Acción biocontroladora de <i>Bacillus</i>		
TITULO	AUTORES	AÑO
<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>israelensis</i> es altamente tóxico para el barrenador de la baya del café, <i>Hypothenemus hampei</i> Ferr. (Coleoptera: Scolytidae).	Méndez-López I, Basurto-Ríos R, Ibarra JE	2003
<i>Bacillus thuringiensis</i> : generalidades: Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas.	Diego H. Sauka, Graciela B. Benintende	2008
<i>Bacillus</i> spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos.	Cristian Layton, Edna Maldonado, Luisa Monroy, Lucia Constanza Corrales, Ligia Consuelo Sánchez	2011

Potencialidades del género <i>Bacillus</i> en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos.	Berto Tejera-Hernández, Marcia M. Rojas-Badía y Mayra Heydrich-Pérez	2011
Bioensayo con el entomopatógeno <i>Bacillus sphaericus</i> como alternativa biológica para el control de insectos vectores de importancia en salud pública.	Lucia Constanza Corrales Ramírez, Ligia Consuelo Sánchez Leal, Ana Graciela Lancheros Díaz, Estefanía Castañeda Álvarez, Yesid Ariza Agón, Raúl Hernando Pardo Puentes, Luz Stella Fuentes Quintero, Lina M. Sierra Guevara MAV	2012
Desarrollo de un medio de cultivo para la producción de biomasa y esporas de <i>Bacillus sphaericus</i> como alternativa de control biológico sobre <i>Tuta absoluta</i> y <i>Plutella xylostella</i> .	Mayra Alejandra Calderón Charria, Libia Lorena González Fonseca, Neyireth Geraldyn Parra Álvarez	2014
Evaluación de la actividad biocida de <i>B. Sphaericus</i> sobre larvas de <i>Plutella xylostella</i> y <i>Tuta absoluta</i> , como alternativa de control biológico.	Ligia Consuelo Sánchez Leal, Lucia Constanza Corrales Ramírez, Solange Viviana Benítez Hernández, Luz Stella Fuentes Quintero, Lina M. Sierra Guevara	2014
Importancia de los lipopéptidos de <i>Bacillus subtilis</i> en el control biológico de enfermedades en cultivos de gran valor económico.	Franklin Eduardo Sánchez Pila	2016
Biocontrol activity of <i>Bacillus subtilis</i> EA-CB0015 cells and lipopeptides against postharvest fungal pathogens.	Juan José Arroyave-Toro, Sandra Mosquera, Valeska Villegas-Escobar	2017
Controlling gastrointestinal nematodes in cattle by <i>Bacillus</i> species.	Natália Berne Pinto, Leonardo Mortagua de Castro, Gabriela de Almeida Capella, Tairan Ourique Motta, Ana Paula de Souza Stori de Lara, Micaele Quintana de Moura, María Elisabeth Aires Berne, Fábio Pereira Leivas Leite	2017

6. DISCUSIÓN

Mediante el control biológico se han propuesto alternativas, con el fin de reemplazar los productos químicos tóxicos, como la implementación de biocontroladores que poseen una serie de propiedades físicas, químicas y biológicas que son apropiadas para el incremento en la productividad, mejoran el rendimiento de los cultivos, favorecen el crecimiento de productos sanos, no generan resistencia en las plagas, son saludables y fáciles de aplicar (65); como se demuestra con especies del género *Bacillus*.

La viabilidad de *Bacillus* como biocontrolador entomopatógeno se sustenta en su capacidad de producir compuestos antimicrobianos como: endosporas, toxinas, lipopéptidos y enzimas, que además de ser resistentes frente a la falta de nutrientes y condiciones desfavorables en el ambiente, pueden inhibir el crecimiento y ocasionar la muerte de diversos patógenos y plagas, como es el caso de *H. hampei*. Además, sus esporas pueden migrar grandes distancias y ser propagadas en el ambiente hasta encontrar las condiciones óptimas para su crecimiento, como medios que presentan superficie húmeda (65), como es el caso de los cultivos de café en Colombia, *Coffea arabica*, el cual florece después de lluvias generando frutos inmaduros, que son el blanco de *H. hampei* (49).

Bacillus, además de realizar el control de fitopatógenos, ayuda a recuperar la estructura de la rizósfera, lo cual constituye aspectos de gran interés para la producción agropecuaria colombiana y que conlleva a considerarse en futuros estudios que permitan comprobar si pueden ser aplicados en formulaciones industriales para obtener productos biológicos óptimos que permitan mejorar la producción de alimentos dentro del esquema de una agricultura conservativa a gran escala (17).

Bacillus brevis, *B. subtilis*, *B. sphaericus* y *B. thuringiensis* son las principales especies representantes de la acción controladora del género *Bacillus*, utilizado como: Bioplaguicida, Insecticida y Larvicida en: Coleópteros (*H. hampei*) (22).,

Lepidópteros (*Tuta absoluta*, *Plutella xylostella*) (29) y Dípteros (*Culex*, *Anopheles* y *Aedes*) (26)., Nematodos gastrointestinales del ganado (*Trichostrongylides*) (30)., y hongos: (*Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Septoria* y *Verticillium*) (19,24).

Bacillus thuringiensis es la principal especie interventora en el manejo de insectos plaga como *Hypothenemus hampei*, la cual es la principal plaga de los cultivos de café. El fundamento de este control sucede, principalmente, gracias a la producción de, toxinas cristalinas proteicas, Cry (del inglés, Crystal) y su efecto al activarse en el intestino medio del insecto gracias al pH alcalino de este órgano, que provoca un desequilibrio osmótico, lisis celular, y finalmente, causa la muerte (66). Cabe resaltar también, la participación de las toxinas expresadas por *Bacillus sphaericus*: *Cry*, *Mtx1*, *Mtx2* y *Bin*, que han demostrado ser efectivos controladores biológicos de larvas de insectos *Tuta absoluta* y *Plutella xylostella*, así como también, la participación de *Bacillus cereus* como potencializador de la acción insecticida de las toxinas proteicas producidas por *B. thuringiensis* (29) (68).

El mayor aporte por parte del género *Bacillus* es su capacidad para minimizar el impacto negativo en el ambiente ocasionado, principalmente, por los agroquímicos, y así eliminar el uso de estos sin repercusiones en el rendimiento de los cultivos o el ecosistema (69). Además, se ha evidenciado que *Bacillus thuringiensis* es un microorganismo que favorece el crecimiento de enemigos naturales, sin generar resistencia por parte de las plagas (Coleópteros, Lepidópteros, Dípteros, Nematodos y hongos), con nula toxicidad para animales superiores y totalmente inofensivo en otros insectos, entre ellos los artrópodos útiles como: las abejas y los abejorros (18,24). A diferencia de los agroquímicos, que persisten en el ambiente, se absorben y distribuyen sistémica en las plantas (1,4). y son tóxicos para: artrópodos, lombrices, hongos, bacterias y protozoos, que son vitales en el ecosistema, ya que descomponen la materia orgánica y suministran nitrógeno (10), además de acumularse en las colonias y generar factores estresantes que impiden su efectivo desempeño y polinización (40).

Adicionalmente, los medios que se han implementado en Colombia para la eliminación de la broca tienen ciertas limitaciones, como por ejemplo, el agroquímico Endosulfán, que causo resistencia en los cultivos con Broca causando mayor infestación de esta plaga (59), los parasitoides *C. stephanoderis* y *P. nasuta*, que no se pueden adaptar tan fácilmente a cualquier condición ambiental (70), y el hongo *Beauveria bassiana* que no puede estar en contacto con insecticidas, ya que estos disminuyen su potencial tóxico, es decir, que su efecto en cultivos ya tratados con insecticidas sistémicos altera su efectividad (63).

Por otro lado, la polinización de abejas en los cultivos de café estimula el crecimiento de las plantas, aumenta el número y tamaño de la semilla y el rendimiento de los cultivos, además, reduce la caída de fruta y mejora la resistencia a las enfermedades y plagas (34). Sin embargo, su acción se ve afectada por la aplicación de sustancias tóxicas en los cultivos que son polinizados, debido a la absorción de estas moléculas en el intestino de las abejas obreras. Después de ser absorbidos dichos tóxicos, conducen de la hemolinfa hacia el cerebro de las abejas, al llegar allí, se une a los receptores colinérgicos del sistema nervioso central de los insectos, donde las moléculas actuarán y llevarán al insecto a la muerte a través de la hiperexcitación neuronal; afectando la distribución, búsqueda de alimento y la supervivencia en las abejas melíferas (6).

Las abejas obreras son las más afectadas por el uso de los agroquímicos en los cultivos a polinizar, ya que tienen una exposición más directa al recolectar el polen y al producir el pan de abeja, que es la fuente principal de proteína de la colonia; pues deben romper las bolas de polen recién recolectadas y mezclarlas con saliva y miel, para empaquetarla en las células y taparlas con cera (39). Sin la abeja obrera cuidando la reina y suministrando el alimento para la colmena, y con una constante redistribución de las funciones de las pocas abejas que quedan para contrarrestar, es lo que ocasiona la mayor pérdida de abejas *Apis mellifera* (32).

En general los efectos subletales ocasionados en las abejas por contacto físico, con los residuos que se encuentran en los productos, o por contacto directo, con sustancias tóxicas recién rociadas en las flores; es originado principalmente por agroquímicos; dentro de los cuales los más utilizados en Colombia y los más nocivos para las abejas son: los **Organofosforados** (principalmente, Clorpirifós), el cual es el contaminante común de la cera de abejas, polen y néctar, y se le acusa de ser el principal promotor del síndrome del colapso de las colonias (42), asimismo, está estrechamente relacionado con la desorientación de las mismas (11,7). Y los **Neonicotinoides:** (thiamethoxam, imidacloprid, clothianidin, thiacloprid), los cuales aún en dosis recomendadas causan gran mortalidad en las abejas (44), al ser un factor estimulante de estrés por la inducción descontrolada de enzimas de desintoxicación (38) que generan alteraciones morfológicas y fisiológicas en dichos polinizadores; afecta el sistema nervioso central, deteriora su conducta y, por último, causa su muerte (43).

El uso de agroquímicos en los cultivos no solo representa el principal factor interviniente en el síndrome del colapso de colonias, sino que también genera graves repercusiones en los cultivos de café, como *Coffea arabica*, ya que al disminuir la polinización mediada por las abejas, baja la producción, calidad e ingresos generados por dichos cultivos en Colombia, además de, aumentar la resistencia de plagas como la Broca y microorganismos no beneficiosos (42).

Hypothenemus hampei (la broca) es la plaga más dañina de los cultivos de café en Colombia, y está ampliamente diseminada, debido a que permanece protegida al interior de los frutos y daña las almendras del café para poder alimentarse y reproducirse (49). Al tener un leve contacto con los plaguicidas o agroquímicos, genera resistencia y ocasiona mayor infestación de los cultivos, porque aún después de 3 meses de estar en el suelo pueden seguir reproduciéndose e infestando lotes vecinos, lo que encarece su control por medios químicos e implica su flujo constante (60).

Debido a que *H. hampei* ataca los frutos inmaduros, por su poca humedad, que es la consistencia ideal del grano que busca para iniciar su oviposición y reproducción, es durante esta época que se puede efectuar el ataque con biocontroladores contra dicha plaga ya que tiene un tiempo de exposición muy prolongado hasta que logre penetrar el fruto, además *Bacillus* puede atacar los adultos de la broca que emergen del suelo y probablemente también puede ingresar por los túneles que realiza la Broca para entrar al fruto y evitar su daño (59) (60).

Por otra parte, dado que el café es una de las principales actividades agrícolas y de exportación en Colombia, se debe poner mayor énfasis en disminuir el uso de sustancias tóxicas en los cafetos, ya que, paradójicamente, la disminución en el número de polinizadores naturales, incrementa la necesidad de estos mismos, pues, como en el cafeto las abejas siempre van a encontrar su provisión de alimento, así mismo, estas van a garantizar siempre su efectiva polinización (35).

Además, la participación de las abejas *Apis mellifera* en los cafetos es de gran importancia, ya que, se ha comprobado que el tamaño del fruto es directamente proporcional a la cantidad de granos de polen que se depositan sobre el estigma, modificando las condiciones fisiológicas de la flor; así, a menor cantidad de polen depositado, los frutos son más pequeños, con pocas semillas y deformes (71).; como es el caso de la auto polinización versus la polinización cruzada, ya que esta última, al garantizar mayor cantidad de polen depositado en el estigma genera frutos de mayor calidad y cantidad, en comparación con la autopolinización (14).

Para que haya una efectiva simbiosis entre *Apis mellifera* y los cultivos de café, hay que tener en cuenta diversos factores, no solo la implementación de biocontroladores como *Bacillus* y la eliminación del uso de agroquímicos, sino que también es necesario proveer un ambiente propicio a los insectos polinizadores para que puedan garantizar, con su polinización, gran productividad en los cafetos; promoviendo mayor plantación de árboles de

sombra, arbustos y árboles de néctar que potencialicen la polinización, proporcionando un hábitat más aceptable para la construcción de colmenas, la hibernación y fuente de alimento para dichos polinizadores (35,72).

Adicionalmente, se le suma la importancia de la participación de la población cafetera colombiana y requerir una mayor interventoría de parte de entidades nacionales, que, en vez de ser un impedimento, contribuyan en la implementación de nuevas tecnologías, que no solo ponen en evidencia su efectividad frente a las plagas, sino que también están contribuyendo a largo plazo a mejorar los suelos y generar un ambiente propicio para el ecosistema, agricultores, comerciantes y consumidores.

Con la innovación de alternativas amigables de control, se espera no solo contribuir en una mejora a nivel ambiental, sino también aumentar la productividad de los pequeños agricultores colombianos, proveer mecanismos de desarrollo incluyentes para las poblaciones rurales y beneficiar a los consumidores, que ya no tendrían que pagar con elevados precios las consecuencias de las pérdidas de siembras enteras por contaminación excesiva de químicos (10).

7. CONCLUSIONES

1. De acuerdo a la revisión documental relacionada con los efectos tóxicos que ocasionan las sustancias controladoras de insectos plaga, en las abejas, se encontró que aunque son varios los factores que intervienen en la disminución de abejas, como: Patógenos, plagas, Selenio, Implicaciones ambientales y ecológicas, Intensificación de producción y Pérdida de hábitat; son los Agroquímicos los principales responsables de la mayor pérdida de colonias, ya que alteran tanto a nivel colectivo, por la organización que tiene las colmenas en cuanto a su trabajo en equipo, como a nivel individual, al alterar todo su funcionamiento locomotor.
2. Con respecto a la información sobre la posible capacidad controladora de *Bacillus* frente a *Hypothenemus hampei*, principal insecto plaga de los cultivos de *Coffea arabica* en Colombia, se evidencia la efectiva acción de *Bacillus thuringiensis* como biolarvicida e insecticida en Coleópteros como *H. hampei*, principalmente por su capacidad de producir toxinas cristalinas proteicas Cry, que además de poder diseminarse con facilidad y ser resistente a múltiples condiciones ambientales, pueden inhibir el crecimiento y la muerte de dichos insectos plaga, al encontrar medios con superficie húmeda que son las condiciones óptimas para su crecimiento y esporulación; como se presenta en los cultivos de *Coffea arabica* en Colombia, el cual florece después de lluvias generando frutos inmaduros, que son el blanco de *H. hampei*. Así, esta será la mejor época para efectuar su ataque ya que está expuesta por un largo tiempo hasta que logre penetrar el fruto. Cabe resaltar también la acción larvicida de las toxinas de *Bacillus sphaericus* y la participación de *Bacillus cereus* como potencializador de la acción insecticida de las toxinas Cry.
3. En cuanto a la influencia de la acción biocontroladora de especies de *Bacillus*, para controlar el insecto plaga de los cultivos de *Coffea arabica*,

Hypothenemus hampei, y su efecto en una polinización efectiva y en la buena salud de las abejas, se pone de manifiesto que: Colombia al ser uno de los mayores productores y exportadores de café, debe implementar en sus cultivos alternativas amigables como los bioplaguicidas hechos a partir de *Bacillus*, que van a permitir la obtención de cultivos libres de plagas y sin necesidad del uso de sustancias tóxicas, lo cual repercute en una efectiva polinización y cultivos de calidad, con gran productividad, inocuos para el consumidor, amigables con el ambiente, que ayudan a recuperar la estructura de la rizósfera, sin generar resistencia en plagas (Coleópteros, Lepidópteros, Dípteros, Nematodos y hongos), y que favorece la supervivencia de las abejas y de enemigos naturales vitales en el ecosistema, y, por consiguiente, son un potencial generador de ingresos para Colombia y su industria cafetera y apícola.

4. Finalmente, se espera que con esta revisión bibliográfica se presente una base para un posterior proyecto de investigación por parte de estudiantes, docentes o jóvenes investigadores, con bioensayos en terrenos de *Coffea arabica* que beneficien el correcto hábitat para las colmenas y la correcta polinización por parte de las abejas. Así mismo, que pongan en evidencia la eficacia del género *Bacillus* como biocontrolador, el cual puede ingresar por los túneles que realiza la Broca para entrar al fruto y así evitar su daño. Así mismo, que permitan comprobar si pueden ser aprovechados en la industria como mejora en la producción de alimentos a gran escala. Además de, favorecer la disminución de sustancias contaminadoras en el ambiente, protegiendo a la vez la salud de todos.

BIBLIOGRAFÍA

1. LaLone C, Villeneuve , Wu-Smart J, Milsk R, Sappington K, Garber K. Weight of evidence evaluation of a network of adverse outcome pathways linking activation of the nicotinic acetylcholine receptor in honey bees to colony death. *Science of The Total Environment* [Online]. 2017 [cited 2017 October 20]; 584(74): 751-775. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.113>.
2. Sanchez OA, Castañeda PC, Muños G, Tellez G. Aportes para el análisis del sector Apícola Colombiano. *CienciAgro* [Internet]. 2013 [citado 2017 Septiembre 11]; 2(4): 469-483. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S2072-14042013000100005&lng=es&nrm=iso. ISSN 2072-1404 .
3. Alfonso FL, Toro I. Riesgo ambiental por el uso de agroquímicos. *Revista Inventum* [Internet]. 2010 [citado 2017 Septiembre 17]; 9(9): 32-41. Disponible en: <http://biblioteca.uniminuto.edu> .
4. Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, Instituto Humboldt Colombia. *Iniciativa Colombiana de polinizadores- Capitulo Abejas ICPA*. Colombia; 2011.
5. Organización de la Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura en Colombia –CPAA. *Acuerdo de Competitividad CPAA 2011-2025*. Bogotá, D.C.; 2011.
6. Domingues C, Abdalla FC, Balsamo PJ, Pereira B, de Alencar Hausen M, Costa MJ, et al. Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotoxic system of the Africanized honeybee. *Chemosphere* [Online]; 2017 [cited 2017 October 9] 186(74): 994-1005. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.133> .
7. Naggar YA, Vogt A, Codling G, Naiem ES, Mona M, Seif A, et al. Organophosphorus insecticides in honey, pollen and bees (*Apis mellifera* L.) And their potential hazard to bee colonies in Egypt. *Ecotoxicology and environmental safety* [Online]. 2015 [cited 2018 March 29]; (114): 1-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25574845> .
8. Calatayud-Vernich, Calatayud F, Simó E, Morales Suarez-Varela M, Picó Y. Influence of pesticide use in fruit orchards during blooming on

- honeybee. *Science of the Total Environment* [Online]. 2016 [cited 2018 June 20]; 541: 33-41. Available from:
<file:///C:/Users/Paola/Downloads/AAH.beemortalitypaper.pdf>.
9. Arena M, Sgolastra F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. *Ecotoxicology* [Online]; 2014 [cited 2018 March 23] 23(3), 324-334. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10646-014-1190-1>.
 10. Pimentel D. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, development and sustainability* [Online]. 2005 [cited 2017 October 9] 7(2): 229–252. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10668-005-7314-2>.
 11. Martín Culma NY. Exposición y Efectos De Los Pesticidas En Las Abejas: Situación Actual Y Normatividad En Colombia [Tesis doctoral]. Cundinamarca: Universidad de Cundinamarca; 2017.
 12. Ballesteros HH, Vásquez RE. Determinación de la producción de jalea real en colmenas de cría de diferentes dimensiones. *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria* [Internet]. 2007 [citado 2017 Septiembre 19] 8(1): 75-81. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/html/4499/449945022010/>.
 13. Velásquez Gutiérrez BD, Vargas Bautista GA. Diagnóstico de enfermedades parasitarias en abejas africanizadas *Apis mellifera* en el municipio de Marsella, Risaralda, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* [Internet]. 2016 [citado 2017 Septiembre 25] 7(1). Disponible en:
<http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1618/1945>
 14. Jaramillo Delgado A. Efecto de las abejas silvestres en la polinización del café (*Coffea arabica*: *Rubiaceae*) en tres sistemas de producción en el departamento de Antioquia [Tesis de Maestría]. Medellín: Universidad Nacional De Colombia; 2012.
 15. Arcila Moreno A, Duarte Cano AF, Villalba Guott DA, Benavides Machado P. Nuevo producto en el Manejo Integrado de la Broca del Café en Colombia. *Cenicafé- Ciencia, tecnología e innovación para la*

- caficultura colombiana [Internet]. 2013 [citado 2017 Octubre 19].
Disponibile en: <https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0437.pdf> .
16. Bustillo Pardey AE. El papel del control biológico en el manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales [Internet]. 2005 [citado 2018 Abril 12] 29: 55-68. Disponible en:
https://www.hawaiicoffeeed.com/uploads/2/6/7/7/26772370/el_papel_del_control_biologico_en_el_manejo_i_de_la_b.pdf.
17. Arroyave-Toro JJ, Mosquera S, Villegas-Escobar V. Biocontrol activity of *Bacillus subtilis* EA-CB0015 cells and lipopeptides against postharvest fungal pathogens. Biological Control [Online]. 2017 [cited 2018 June 20] 114: 195-200. Available from:
https://www.researchgate.net/publication/319296502_Biocontrol_activity_of_Bacillus_subtilis_EA-CB0015_cells_and_lipopeptides_against_postharvest_fungal_pathogens
18. Badii MH, Abreu JL. Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control). Daena: International Journal of Good Conscience [Internet]. 2006 [citado 2018 Junio 22] 1(1): 82-89. Disponible en:
https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/37939451/8_lectura_Control_biologico_una_forma_sustentable_del_control_de_plagas.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1529700450&Signature=ev8Ti5ZsOudFdhvfaOk8Q1I0z7o%3D&response-content-disposit.
19. Sánchez Pila FE. Importancia de los lipopéptidos de *Bacillus subtilis* en el control biológico de enfermedades en cultivos de gran valor económico. Bionatura [Internet]. 2016 [citado 2018 Junio 22] 1(3): 135-138. Disponible en: <https://www.revistabionatura.com/2016.01.03.7.html>.
20. Ministerio del Medio Ambiente - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Lineamientos de Política Ambiental para el Uso y Manejo de Plaguicidas. Bogotá, Colombia; 1992
21. Herrera Rojas G, Polanco Rodríguez H. Los plaguicidas utilizados en los

- últimos cuarenta y cinco años en Colombia. Agronomía colombiana [Internet]. 1995 [citado 2018 Abril 1] 12(1): 102-113. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/28041/28299> .
22. Méndez-López I, Basurto-Ríos R, Ibarra JE. *Bacillus thuringiensis serovar israelensis* es altamente tóxico para el barrenador de la baya del café, *Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera: Scolytidae). FEMS Microbiology Letters [Internet]. 2003 [citado 2018 Abril 10] 226(1): 73-77. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article/226/1/73/570462>.
23. Vázquez-Moreno LL. Experiencia cubana en el manejo agroecológico de plagas en cafeto y avances en la broca del café. En: Simposio sobre Situación Actual y Perspectivas de la Investigación y Manejo de la Broca del Café en Costa Rica, Cuba, Guatemala y México. Mexico: Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur Tapachula Chiapas, México; 2005.
24. Ibarra JE, Del Rincón Castro MC, Galindo E, Patiño M, Serrano L, García R, et al. Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos. Revista latinoamericana de microbiología [Internet]. 2006 [citado 2017 Diciembre 20]; 48(2): 113-120. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062k.pdf> .
25. Van Driesche RG, Hoddle MS, Center TD. Control de plagas y malezas por enemigos naturales. US Department of Agriculture, US Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team. México; 2007.
26. Corrales Ramírez LC, Sánchez Leal LC, Lancheros Díaz AG, Castañeda Álvarez E, Ariza Agón Y, et al. Bioensayo con el entomopatógeno *Bacillus sphaericus* como alternativa biológica para el control de insectos vectores de importancia en salud pública. Colombia; 2012.
27. Universidad Nacional de Colombia. Abejas silvestres mejoran los cafetales. Agencia de Noticias UN. 2013 Marzo 1; Sec Ciencia & Tecnología).
28. Ramírez J, Ureña V, Valdivieso E. Valoración de abejas sin aguijón como polinizadores del café (*Coffea arabica* L.), naranja y mango, en sistemas agroforestales de Loja y El Oro, Ecuador. Ecuador; 2013.
29. Calderón Charria MA, González Fonseca LL, Parra Álvarez G.

- Desarrollo de un medio de cultivo para la producción de biomasa y esporas de *Bacillus sphaericus* como alternativa de control biológico sobre *Tuta absoluta* y *Plutella xylostella*. [Trabajo de grado]. Bogotá D.C.: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca; 2014.
30. Berne Pinto N, Mortaguade Castro L, de Almeida Capella G, Ourique Motta T, de Souza Stori de Lara AP, Quintana de Moura M, et al. Controlling gastrointestinal nematodes in cattle by *Bacillus* species. *Veterinary parasitology* [Online]. 2017 [cited 2017 September 9]; 245: 1-4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401717303400>.
 31. Bordier C, Suchail S, Pioz M, Devaud JM, Collet C, Charreton M, et al. Stress response in honeybees is associated with changes in task-related physiology and energetic metabolism. *Journal of insect physiology* [Online]. 2017 [cited 2018 May 30] 98: 47-54. Available from: https://www.researchgate.net/publication/311090061_Stress_response_in_honeybees_is_associated_with_changes_in_task-related_physiology_and_energetic_metabolism.
 32. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio Agrocadenas Colombia. La cadena de las abejas y la apicultura en Colombia. Agrocadenas: Documento De Trabajo No. 124. Bogota D.C.; 2006.
 33. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura. Colombia; 2015.
 34. Abrol DP. Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production. India: Springer Science & Business Media; 2011.
 35. Bradbear N. La apicultura y los medios de vida sostenibles. Food & Agriculture Org (FAO). Roma; 2005.
 36. Macias JMB. Departamento de Farmacia [Internet]. 2012 [citado 2018 Junio 22]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/mauriciobta/nuevas-molculas-de-uso-farmacutico>.
 37. Sociedad cooperativa Reina Kilama. El ciclo de vida de la abeja del huevo al imago [Internet]. 2013 [citado 2018 Junio 30]. Disponible en: <http://coronaapicultores.blogspot.com/2013/12/el-ciclo-de-vida-de-la-abeja-del-huevo.html>.
 38. Retschnig G, Neumann P, Williams GR. Thioclopid–*Nosema ceranae* interactions in honey bees: Host survivorship but not parasite

- reproduction is dependent on pesticide dose. Journal of invertebrate pathology [Online]. 2014 [cited 2017 September 9]; 118: 18-19. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201114000263>.
39. Cutler GC, Purdy J, Giesy P, Solomon KR. Risk to Pollinators from the Use of Chlorpyrifos in the United States. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Ecological Risk Assessment for Chlorpyrifos in Terrestrial and Aquatic Systems in the United States. 2014; 231: 219-265.
40. Kasiotis KM, Anagnostopoulos C, Anastasiadou P, Machera K. Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: reported death incidents in honeybees. Science of the Total Environment [Online]. 2014 [cited 2017 September 9]; 485: 633-642. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969714003726>.
41. Chen YW, Wu PS, Yang EC, Nai YS, Huang ZY. The impact of pyriproxyfen on the development of honey bee (*Apis mellifera* L.) Colony in field. Journal of Asia-Pacific Entomology [Online]. 2016 [cited 2017 September 9]; 19(3): 589-594. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226861516300012>.
42. Pantoja A, Smith-Pardo A, García A, Saenz A, Rojas F. Principios y avances sobre polinización como servicio ambiental para la agricultura sostenible en países de Latinoamérica y el Caribe. FAO. Santiago, Chile; 2014.
43. Tavares DA, Dussaubat C, Kretzschmar A, Carvalho SM, Silva-Zacarin ECM, Malaspina, et al. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. Environmental pollution. [Online]; 2017 [cited 2018 May 30] 229: 386-393. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749117315361#>
44. Stanley J, Sah K, Jain S, Bhat J, Sushi S. Evaluation of pesticide toxicity at their field recommended doses to honeybees, *Apis cerana* and *A. mellifera* through laboratory, semi-field and field studies. Chemosphere. [Online].; 2018 [cited 2018 May 25]; 119 (2015): 668-674. Available from:

- https://www.researchgate.net/publication/264987040_Evaluation_of_pesticide_toxicity_at_their_field_recommended_doses_to_honeybees_Apis_cerana_and_A_mellifera_through_laboratory_semi-field_and_field_studies#pf7 .
45. Abbink J, Nauen M&R. Mecanismo De Acción De Los Neonicotinoides [Internet]. 2011 [citado 2018 Julio 9]. Disponible en: <https://www.farmlandbirds.net/sites/default/files/Lecture%20Hampshire%20Beekeepers%20ES.pdf>.
46. Smith KM, Loh EH, Rostal MK, Zambrana-Torrel CM, Mendiola L, Daszak P. Pathogens, pests, and economics: drivers of honey bee colony declines and losses. *Ecohealth*. [Online]; 2013 [cited 2018 May 30] 10(4): 434-445. Available from: https://www.researchgate.net/publication/260093999_Pathogens_Pests_and_Economics_Drivers_of_Honey_Bee_Colony_Declines_and_Losses.
47. Burden CM, Elmore C, Hladun KR, Trumble JT, Smith BH. Acute exposure to selenium disrupts associative conditioning and long-term memory recall in honey bees (*Apis mellifera*). *Ecotoxicology and environmental safety*. [Online]; 2016 [cited 2018 June 3] 127: 71-79. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651315302232>.
48. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación (FAO) - Departamento de Agricultura y Protección del Consumidor. Protección a los polinizadores. 2005.
49. Manejo agronómico del cultivo de café [Internet]. Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia; 2010 [2010; citado 20 Mayo 2018]. Disponible en: http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/sobre_el_cafe/el_cafe/manejo_agronomico/
50. Alfaro Escobar JM. Cultivo de café [Internet]. 2015 [citado 2018 Julio 10]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/Josmalfa/cultivo-del-cafe-53946112>.
51. Las abejas en los cafetales [Internet]. España: Jr FS; 2010 [actualizado 30 oct 2017; citado 18 Mayo 2018]. Disponible en:

- <http://www.mielarlanza.com/es/contenido/?iddoc=133>
52. Klein AM, Dewenter IS, Tschardt T. Bee pollination and fruit set of *Coffea arabica* and *C. canephora* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* . [Online]. 2003 [cited 2018 Agosto 21]; 90(1): 153-157. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.90.1.153>
53. Cuadros Comparativos. Cuadros comparativos entre autopolinización y polinización cruzada [Internet]. 2018 [citado 2018 Julio 10]. Disponible en: <http://cuadroscomparativos.com/cuadros-comparativos-entre-autopolinizacion-y-polinizacion-cruzada/>.
54. Florez JA, Muschler R, Harvey C, Finegan B, Roubik DW. Biodiversidad funcional en cafetales: el rol de la diversidad vegetal en la conservación de abejas. [Internet]. 2002 [citado 2018 Septiembre 1]; 9 (3): 5-36. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/35915722/AbejasR_AFA.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1538970421&Signature=r5PcVrMocfh6butoczUzK7WoMo%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DBiodiversidad_funcional_en_cafetale.
55. Ricketts TH, Daily GC, Ehrlich PR, Michener CD. Economic value of tropical forest to coffee production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Online]. 2004 [cited 2018 May 21]; 101 (34): 12579-12582. Available from: <http://www.pnas.org/content/101/34/12579>.
56. Ortega L. La palomilla de las raíces: *Dysmicoccus* spp. [Internet].; 2013 [citado 2018 Octubre 10]. Disponible en: <https://prezi.com/fbsjquwu6v3h/la-palomilla-de-las-raices-dysmicoccus-spp/>.
57. Ortuno E. Cultivo de Café. [Internet]. 2015 [citado 2018 Octubre 10]. Disponible en: <https://slideplayer.es/slide/3095625/>.
58. Villegas Garcia C, Zabala GA, Ramos AA, Benavides P. [Internet]. 2009 [citado 2018 Octubre 10]. Disponible en: [https://www.cenicafe.org/es/publications/arc060\(04\)352-373.pdf](https://www.cenicafe.org/es/publications/arc060(04)352-373.pdf).

59. Bustillo Pardey E. Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana. Edición: 1st, Chapter. FNC – Cenicafé, Chinchiná (Colombia): Editorial Blancolor Ltda.; 2015.
60. Pérez León RM, Suárez Pérez C, Castellanos L. Efecto de la cepa autóctona LBb-11 de *Beauveria bassiana* (Bals) Voill sobre *Hypothenemus hampei* Ferrari en el municipio Fomento. [Tesis Maestría]. Cuba: Universidad De Cienfuegos “Carlos Rafael Rodríguez” Cetas; 2009.
61. Cenicafé. La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) En Colombia [Internet]. 2016 [citado 2018 Julio 11]. Disponible en: <http://docplayer.es/17788407-La-broca-del-cafe-hypothenemus-hampeii-ferrari-coleoptera-curculionidae-en-colombia.html>.
62. Armijos J. Entomatología Agrícola [Internet]. 2015 [citado 2018 Julio 11]. Disponible en: <http://entomologyagric.blogspot.com/2015/09/broca-del-cafe-normal-0-21-false-false.html>.
63. Cárdenas-Ramírez ÁB, Villalba-Guott DA, Bustillo-Pardey ÁE, Montoya-Restrepo EC, Góngora-Botero CE. Eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. Cenicafé [Internet]; 2007 [citado 2018 Junio 26] 58(4):293-303. Disponible en: <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/140>.
64. Instituto de Cultivos Tropicales. Control biológico [Internet]. 2015 [citado 2018 Julio 12]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/SWAM16/control-biologico-ok-48167924>.
65. Layton C, Maldonado E, Monroy L, Corrales LC, Sánchez LC. *Bacillus spp.*; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. NOVA. [Internet]; 2011 [citado 2018 Junio 26]. Disponible en: <http://www.unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/185/370>.
66. Sauka DH, Benintende GB. *Bacillus thuringiensis*: generalidades: Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. Revista argentina de microbiología. [Internet].;

- 2008 [citado 2018 Junio 26]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213016787013>.
67. Hernandez Fernandez JA, López-Pazos SA. Nova Science Publishers [Internet]. 2011 [citado 2018 Julio 18]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/287703082_Bacillus_Thuringiensis_Soil_microbial_insecticide_diversity_and_their_relationship_with_the_entomopathogenic_activity.
68. Tejera-Hernández B, Rojas-Badía MM, Heydrich-Pérez M. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. Revista CENIC-Ciencias Biológicas. [Internet]; 2011 [citado 2018 Junio 26]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1812/181222321004.pdf>.
69. Smodiš Škerl MI, Kmecl V, Gregorc A. Exposure to pesticides at sublethal level and their distribution within a honey bee (*Apis mellifera*) colony. Bulletin of environmental contamination and toxicology. [Online]. 2010 [cited 2018 April 23]; 85(2): 125-128. Available from:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-010-0069-y> .
70. Morales R, Bacca T, Alberto S. Establecimiento de los parasitoides de origen Africano de la broca del café en la zona cafetera del norte del departamento de Nariño. Boletín Científico Museo de Historia Natural [Internet]. 2011 [citado 2018 Octubre 3]; 15: 81-93. Available from:
[http://boletincientifico.ucaldas.edu.co/downloads/Boletin\(15\)2_6.pdf](http://boletincientifico.ucaldas.edu.co/downloads/Boletin(15)2_6.pdf).
71. Aldana J, Cure JR, Almanza MT, Vecil D, Rodríguez D. Efecto de *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) sobre la productividad de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo invernadero en la Sabana de Bogotá, Colombia. [Internet]. 2007 [citado 2018 Octubre 3]; 25 (1): 62-72. Disponible en:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/14400/15222>.
72. Jha S, W. Dick C. Shade coffee farms promote genetic diversity of native trees. Current Biology. [Online].; 2008 [cited 2018 May 21]; 18(24): 1126-1128. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982208014966>.