

Cenicafé

Revista del
Centro Nacional de Investigaciones de Café



Volumen 70 Número 2

Julio - Diciembre 2019



**Federación Nacional de
Cafeteros de Colombia**

COMITÉ NACIONAL

Ministro de Hacienda y Crédito Público
Alberto Carrasquilla Barrera

Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural
Andrés Valencia Pinzón

Ministro de Comercio, Industria y Turismo
José Manuel Restrepo Abondano

Directora del Departamento Nacional de Planeación
Gloria Amparo Alonso Másmela

Representante del Gobierno en Asuntos Cafeteros
Nicolás Pérez Marulanda

Periodo 1° enero/2019- diciembre 31/2022

José Eliecer Sierra (Antioquia)
José Alirio Barreto (Boyacá)
Eugenio Vélez Uribe (Caldas)
Danilo Reinando Vivas (Cauca)
Juan Camilo Villazón (Cesar-Guajira)
Javier Bohórquez Bohórquez (Cundinamarca)
Ruber Bustos Ramírez (Huila)
Javier Mauricio Tovar (Magdalena)
Jesús Armando Benavides (Nariño)
Armando Amaya Álvarez (Norte de Santander)
Carlos Alberto Cardona (Quindío)
Luis Miguel Ramírez (Risaralda)
Héctor Santos Galvis (Santander)
Olivo Rodríguez Díaz (Tolima)
Camilo Restrepo Osorio (Valle)

Gerente General
Roberto Vélez Vallejo

Gerente Administrativo y Financiero
Juan Camilo Becerra Botero

Gerente Comercial
Juan Camilo Ramos Mejía

Gerente Técnico
Hernando Duque Orrego

Director Investigación Científica y Tecnológica
Álvaro León Gaitán Bustamante

Uso del material de esta revista:

Aquellas personas que deseen usar en otras publicaciones, ilustraciones o datos publicados en la Revista Cenicafé, deben obtener el permiso del Centro Nacional de Investigaciones de Café y del autor del artículo y reconocer por escrito los créditos a la Revista Cenicafé como fuente original del material.

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.

La Revista Cenicafé, órgano divulgativo del Programa de Investigación Científica de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia y el Fondo Nacional del Café se publica semestralmente.

Editada en diciembre de 2019
Tel: 57(6)8506550 Fax: 57(6)8504723 A.A.: 2427 Manizales
E-mail: cenicafe@cafedecolombia.com
www.cenicafe.org

Cenicafé

Revista del Centro Nacional de Investigaciones de Café

Manizales - Caldas - Colombia

VOL. 70

JULIO - DICIEMBRE 2019

No. 2

CONTENIDO

DETERMINACIÓN DE TRAZAS DE PESTICIDAS EN LA PRODUCCIÓN DE CAFÉ EN COLOMBIA. Aníbal Arcila Moreno; Pablo Benavides Machado	7
DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES DURING COLOMBIAN COFFEE PRODUCTION	7
EFFECTO DE DOS INDUCTORES FLORALES SOBRE LA FLORACIÓN Y PRODUCCIÓN DE CAFÉ. Carlos Andrés Unigarro Muñoz; Lina Marcela Díaz Bejarano; Jhon Félix Trejos Pinzón	19
EFFECT OF TWO FLORAL INDUCERS ON COFFEE FLOWERING AND YIELD	19
EFFECTO DE MEZCLAS Y UNIDAD DEL ÁREA DEL GENOTIPO SOBRE EL INCREMENTO PROGRESIVO DE <i>Hemileia vastatrix</i> BERK. Y BR. Juan Carlos Arias Suárez	30
EFFECT OF MIXTURES AND GENOTYPE AREA UNIT ON THE PROGRESSIVE INCREASE OF <i>Hemileia vastatrix</i> BERK. Y BR.	30
MOLECULAR EVIDENCE FOR <i>Wolbachia</i> INFECTION IN <i>Prorops nasuta</i> (HYMENOPTERA: BETHYLIDAE), A PARASITOID WASP OF THE COFFEE BERRY BORER. Lucio Navarro; Carlos Maldonado; Pablo Benavides	45
EVIDENCIA MOLECULAR DE INFECCIÓN POR <i>Wolbachia</i> EN <i>Prorops nasuta</i> (HYMENOPTERA: BETHYLIDAE), UNA AVISPA PARASITOIDE DE LA BROCA DEL CAFÉ	45
PÉRDIDAS POTENCIALES DE SUELO POR EROSIÓN HÍDRICA EN LA REGIÓN CAFETERA DEL DEPARTAMENTO DE RISARALDA. Luz Adriana Lince Salazar; Wadi Andrey Castaño Castaño.....	55
POTENTIAL SOIL LOSS BY WATER EROSION IN THE COFFEE ZONE OF RISARALDA DEPARTMENT ...	55
RELACIONES ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE COMPUESTOS QUÍMICOS DEL CAFÉ Y LAS TEMPERATURAS DE TORREFACCIÓN. Gloria Inés Puerta Quintero; Luz Fanny Echeverri Giraldo	67
RELATIONSHIPS BETWEEN THE CONCENTRATION OF COFFEE CHEMICAL COMPOUNDS AND ROASTING TEMPERATURES	67
USO POTENCIAL DE <i>Hermetia illucens</i> (LINNAEUS) (DIPTERA: STRATIOMIDAE) PARA TRANSFORMACIÓN DE PULPA DE CAFÉ: ASPECTOS BIOLÓGICOS. Marisol Giraldo Jaramillo; Nelson Rodríguez Valencia; Pablo Benavides Machado	81
POTENTIAL USE OF <i>Hermetia illucens</i> (LINNAEUS) (DIPTERA: STRATIOMIDAE) FOR THE TRANSFORMATION OF COFFEE PULP: BIOLOGICAL ASPECTS	81
VALIDACIÓN DEL MANEJO INTEGRADO DE <i>Hypothenemus hampei</i> FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN EL HUILA, COLOMBIA. Ferney López Franco; Laura Alexandra Laiton Jiménez; Pablo Benavides Machado	91
VALIDATION OF INTEGRATED PEST MANAGEMENT FOR COFFEE BERRY BORER, <i>Hypothenemus hampei</i> FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) IN HUILA	91

COMITÉ EDITORIAL

Pablo Benavides M.	Ph.D. Ing. Agrónomo. Entomología, Cenicafé
Carmenza Esther Góngora B.	Ph.D. Microbióloga. Entomología, Cenicafé
José Ricardo Acuña Z.	Ph.D. Biólogo. Fisiología Vegetal, Cenicafé
Diana María Molina V.	Ph.D. Bacterióloga. Mejoramiento Genético, Cenicafé
Luis Fernando Salazar G.	Ph.D. Ing. Agrónomo. Suelos, Cenicafé

EDITORES ESPECIALIZADOS

Hernán González O.	PhD. Cenicafé, FNC
Zulma Nancy Gil P.	PhD. Cenicafé, FNC

REVISORES REVISTA CENICAFÉ VOLUMEN 70 No. 1 Y No. 2

Álvaro L. Gaitán B.	PhD. Cenicafé, Federación Nacional de Cafeteros (FNC)
Hernando Duque O.	MSc. Gerencia Técnica (FNC)
Pablo Benavides M.	PhD. Cenicafé, FNC
Luis Fernando Salazar G.	PhD. Cenicafé, FNC
Aída Esther Peñuela M.	PhD. Cenicafé, FNC
Carlos Ariel Ángel C.	PhD. Cenicafé, FNC
Lucio Navarro E.	PhD. Cenicafé, FNC
Juan Carlos García L.	PhD. Cenicafé, FNC
Aníbal Arcila M.	MSc. Cenicafé, FNC
José Raúl Rendón S.	MSc. Cenicafé, FNC
Hugo Mauricio Salazar E.	MSc. Cenicafé, FNC
Julio Quiroga C.	MSc. Cenicafé, FNC
Luz Fanny Echeverry	MSc. Cenicafé, FNC
Andrés Duque.	Esp. Administrador de Empresas, Comité de Caldas, FNC
Rodolfo Suárez.	Esp. Administrador de Empresas, Gerencia Técnica, FNC
Rodrigo Alarcón S.	Ing. Químico, Almacafé, FNC
Germán Moreno R.	PhD. Ing. Agrónomo
Flor Edith Acevedo	PhD. Ing. Agrónomo
Rolando Tito Bacca I.	PhD. Universidad del Tolima
Yesid Cuesta	PhD. Biólogo, Universidad de Antioquia
Natalia Hoyos Botero	PhD. Geografía, Universidad del Norte
Fernando Álvarez M.	MSc. Ing. Agrícola, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín
Andrés Felipe Rojas	PhD. Ing. Químico, Universidad Nacional de Colombia sede Manizales
Juan Esteban Tibaquirá	PhD. Ing. Mecánico, Universidad Tecnológica de Pereira
Hugo Ruiz E.	PhD. Ing. Agrónomo, Universidad de Nariño
Joaquín Guillermo Ramírez Gil	PhD. Ing. Agrónomo, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá
Víctor Hugo Ramírez B.	MSc. Yara International
Alberto Martínez	BS. Biología, MS. Agronomía, (Purdue University),
Jaime Andrés Osorio G	MSc. Biólogo, Agrosavia Sede Tibaitatá.
Pedro María Sánchez A.	Ing. Agrónomo
Miguel Alfonso Castiblanco C.	Profesional en Bibliotecología e Ingeniero de Sistemas, Cenicafé, FNC

DETERMINACIÓN DE TRAZAS DE PESTICIDAS EN LA PRODUCCIÓN DE CAFÉ EN COLOMBIA

Aníbal Arcila Moreno*, Pablo Benavides Machado*

ARCILA M., A.; BENAVIDES M., P. Determinación de trazas de pesticidas recomendados en la producción de café en Colombia. Revista Cenicafé 70(2):7-18. 2019

Esta investigación tuvo como fin determinar si las aplicaciones de pesticidas recomendadas por Cenicafé dejan trazas en el café verde que supere los Límites Máximos de Residuos de Pesticidas (LMR), permitidos por Estados Unidos, Europa y Japón. Se seleccionaron parcelas con similar número de árboles en tres estaciones experimentales y dos fincas en la zona cafetera central. Se evaluaron los productos: clorpirifos, tiametoxam, clorantraniliprole, cyantraniliprole, spiromesifen, cyproconazol, pyraclostrobin, flutriafol, carbendazim, oxyfluorfen, glifosato, glufosinato de amonio, 2,4-D amina y diuron, y se evaluaron en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones, más un testigo sin aplicación. Cada pesticida se evaluó en tres localidades para un total de 12 repeticiones. Los productos se aplicaron en la forma y concentración o dosis recomendada por Cenicafé. Se evaluaron dos momentos de manejo: aplicando los pesticidas el día del período de carencia y a la mitad del mismo. En cada lugar la cosecha se realizó el mismo día y se envió a la Estación Experimental Naranjal para su beneficio vía húmeda con agua de acueducto y secado en marquesinas. Las muestras de café verde fueron conservadas a -20°C hasta el envío para el análisis. Los resultados mostraron que los pesticidas evaluados cuando son manejados según indicaciones de Cenicafé no superaron los LMR establecidos en café verde; sin embargo, existen riesgos que puedan superarse los niveles de residuos si los pesticidas se manejan con tiempos menores al período de carencia.

Palabras clave: Café verde, período de carencia, residuos, inocuidad del café.

DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES DURING COLOMBIAN COFFEE PRODUCTION

This research was carried out in order to determine if the pesticide applications recommended by Cenicafé leave residues in green coffee that surpass the Maximum Residue Limits (MRL) allowed by the United States, Europe and Japan. Coffee crops with similar numbers of coffee trees were selected in three Experimental Stations and two coffee farms in the Colombian central coffee region. Chlorpyrifos, thiamethoxam, chlorantraniliprole, cyantraniliprole, spiromesifen, cyproconazole, pyraclostrobin, flutriafol, carbendazim, oxyfluorfen, glifosate, glufosinate-ammonium, 2,4-D amine and diuron were evaluated in a randomized complete block design with four replications and one control without pesticide. Each pesticide was evaluated in three locations for a total of 12 replications. The pesticides were used in the form and concentration or doses recommended by Cenicafé. Two moments were evaluated: the pesticides application the day before the preharvest interval (PHI) and half the way through the process. In each place the coffee harvesting was gathered the same day and the coffee berries were immediately sent to be wet processed with pipe water and dried in marquees at the Naranjal Experimental Station. The green coffee samples were stored at -20 °C up to the moment in which they were sent for analysis. The results showed that if the evaluated pesticides are used as recommended by Cenicafé, they do not surpass the MRL in green coffee. However, there is a risk of surpassing MRL if pesticides are used after the preharvest interval.

Keywords: Green coffee, preharvest interval, residues, coffee innocuity.

*Asistente de Investigación e Investigador Científico III, respectivamente. Disciplina de Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) establecieron, a partir de 1963, los estatutos del Codex Alimentarius que fijan el Límite Máximo de Residuos de pesticidas (LMR) que es el nivel más alto de un residuo de pesticida que se tolera legalmente en o sobre un alimento humano, o cuando los pesticidas se aplican correctamente de acuerdo con las Buenas Prácticas Agrícolas (European Commission, 2008b; FAO/OMS, 2019a). En la actualidad existen 189 miembros del Codex, constituido por 188 países y una Organización (la Unión Europea) (FAO/OMS, 2019b). No obstante, los países son soberanos para modificar dichos valores para cada alimento a estándares nacionales, adoptar valores más estrictos que el Codex debido a hábitos de consumo o no tolerar sustancias prohibidas cuando la información toxicológica no ha sido establecida. Ciertos países limitan a tres el número de ingredientes activos presentes, sin importar los valores de LMR (Redagráfica, 2017). Cabe anotar que, para la Unión Europea y Japón cuando un pesticida no tiene estudios y por lo tanto no es mencionado específicamente, tiene un LMR por defecto de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ (European Commission, 2008b; The Japan Food Chemical Research Foundation JFCRF, 2019b). El café siendo un alimento, no puede contener residuos de pesticidas que pongan en riesgo la salud humana; por tal motivo, los principales países compradores de café verde como Estados Unidos, Unión Europea y Japón han fijado los LMR para una cantidad importante de pesticidas.

Los niveles de residuos en los alimentos dependen directamente del uso de los plaguicidas y de su degradación, por lo tanto, son factores importantes la naturaleza química de los compuestos y de las formulaciones, dosis, frecuencias y modo de aplicación, intervalo

entre la última aplicación y la cosecha (período de carencia) y de igual modo, las características del cultivo, la degradación química dentro y fuera de la planta, el metabolismo en los tejidos de la planta y las condiciones climáticas (Romero R. & González M., 2012; Torrado Pacheco, s.f.). Según Hernández *et al.* (2003) al establecer el período de carencia se logra que los residuos en los alimentos no sobrepasen los LMR.

De acuerdo a Rivers (2013), desde el año 2002, el 22% de los alimentos rechazados a América Latina y el Caribe se debió a la presencia de residuos de plaguicidas; entre 2009 y 2012, Japón rechazó el 5% de los alimentos por contaminación por plaguicidas, siendo el 44% en café y cacao. Un informe de la Unión Europea (European Commission, 2008a) indica que en el año 2006 el 42% de las muestras vegetales analizadas presentaban residuos de pesticidas y el 4,4% excedían los LMR. Según la Comisión Europea en el año 2018 hubo 3.699 notificaciones por problemas de inocuidad en alimentos importados, de los cuales 276 fueron por residuos de pesticidas con 154 rechazos en la frontera (European Commission, 2019).

La presencia de residuos en granos de café por efecto de las aplicaciones de pesticidas no ha sido evaluada, especialmente con las moléculas desarrolladas en los últimos años. La mayoría de las investigaciones corresponden a estudios sobre organoclorados, carbamatos y organofosforados. Ribas, Pigati y Almeida (1974) no encontraron residuos con aplicaciones de dieldrin y endosulfan. En Centro América, Urbina y Javed (1988) al evaluar muestras de café cereza, uno, siete y 21 días después de la última aplicación de tiadimefón, propiconazol y endosulfan, dimetoato y malathion, encontraron residuos por debajo de los niveles máximos permitidos. Rigitano, Souza y Moraes (1989) al estudiar el contenido de residuos de aldicarb

en granos de frutos cosechados entre 15 y 90 días después de la aplicación, encontraron que los residuos fueron inferiores a los valores de detección utilizados en el ensayo (0,02 mg kg⁻¹). Resultados similares fueron obtenidos por Cetinkaya, Silwar y Thieman (1985) quienes señalan que muestras de café verde de 11 países contenían residuos de pesticidas organoclorados y organofosforados por debajo de los niveles de detección. La Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) hizo un monitoreo a 21 países exportadores de café, entre ellos Colombia; al evaluar 60 muestras de café verde encontró que cuatro muestras tenían residuos entre 0,01 y 0,04 mg kg⁻¹ de clorpirifos y 0,01 mg kg⁻¹ de pirimifos metil (Jacobs & Yess, 1993).

En Colombia, en un estudio de Cenicafé con los insecticidas endosulfan, clorpirifos, pirimifos metil y fenitrotión en dosis comerciales y doble dosis, aplicados a cerezas maduras minutos antes del beneficio, se registraron cinco muestras con residuos de los dos primeros insecticidas por encima de los LMR establecidos por la EPA de Estados Unidos; cuatro de ellas correspondientes a dosis dobles y una (clorpirifos) para la dosis comercial (Puerta, 1998).

El café es uno de los productos primarios de mayor valor en la economía mundial; por muchos años el segundo en valor, solo superado por el petróleo como fuente de divisas para los países en desarrollo; por lo tanto, vital en sus economías (International Coffee Organization, 2015). Colombia (cifras no oficiales), en la actualidad tiene un área sembrada en café de 877.000 ha, en el año 2018 exportó alrededor de 12,7 millones de sacos, que correspondieron a unos US\$ 2.600.000.000, de este volumen el 44,9% se destinó a Estados Unidos, el 26,5% a Europa y el 8,4% al Japón (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia FNC, 2019).

Para el manejo de problemas fitosanitarios en el cultivo del café en Colombia, basado en estudios experimentales, Cenicafé recomienda el uso de agroquímicos específicos (en su mayoría de nueva generación), equipos y métodos de aplicación, dosis o concentraciones a aplicar y momentos de aplicación (respetando el periodo de carencia), enmarcados en un manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses de interferencia. A la fecha, no hay investigaciones que hayan evaluado si los plaguicidas manejados en la producción de café, según dichas recomendaciones, sobrepasan los LMR establecidos por los principales países compradores de café verde. El objetivo de este estudio fue determinar si bajo las recomendaciones de manejo químico definidas por Cenicafé para problemas fitosanitarios, se encuentran trazas de pesticidas en la producción de café en Colombia y si superan los LMR permitidos por el Codex Alimentarius, Estados Unidos, Unión Europea y Japón.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. En la Tabla 1 se presentan las localidades y características de las parcelas en donde se realizó el proyecto de investigación. En cada sitio se seleccionó un lote en producción en donde no se había realizado manejo fitosanitario, por lo menos, dos meses antes de la aplicación de los pesticidas a evaluar en esta investigación.

Tratamientos. Correspondieron a diferentes manejos fitosanitarios (MF) con dos momentos de aplicación. Se aplicaron de dos o tres pesticidas por parcela (un fungicida, un insecticida o un herbicida). Cada lote se dividió en cuatro bloques, a su vez, cada bloque se subdividió en parcelas según el número de MF por año (Tabla 2). Los MF fueron asignados de manera aleatoria en las diferentes parcelas de cada bloque, el factor de bloqueo fue la pendiente del terreno. Este diseño se replicó

en tres localidades diferentes (Tabla 1), de tal modo, que se tuvieron cuatro repeticiones por localidad, pesticida y momento de aplicación, es decir, cada pesticida, por momento de aplicación, se evaluó en 12 parcelas.

Momento de aplicación. Se definieron de acuerdo al período de carencia (PC) dos momentos: el indicado en la ficha técnica de cada producto para el cultivo del café (en los que no tenía esta información para café, se asumió el indicado para otro cultivo perenne)

y la mitad del período de carencia (Tabla 3). Con el fin de tener una completa remoción del pericarpio durante el despulpado de los frutos, la cosecha y beneficio se realizó entre las semanas 30 y 32 después de la floración principal; para ello, en cada sitio se tuvieron en cuenta los registros con las fechas de floración y así se programó el día de la cosecha. Este momento se consideró como el día cero a partir del cual se definieron las fechas de aplicación de cada producto para coincidir con el PC definido.

Tabla 1. Características de los lotes y parcelas usados en la investigación.

Año montaje	Estación/ finca	Lote	Variedad	Prom. árboles/ parcela	Sitios/ha	Tipo de renovación
2015	Naranjal	Rosario 2	Castillo	212	4.444*	Zoca
	Maracay	Lote 1	Castillo	204	10.000	Zoca
	La Catalina	Caseta–Costeño	Castillo	214	5.000*	Siembra
2016	Paraguacito	Pilar	Castillo	160	7.142	Siembra
	El Agrado	Lote 14**	Castillo	123	6.667	Zoca
	La Catalina	Roberto	Castillo	141	5.000	Siembra

*Dos ejes por sitio; **Siembra en doble surco de 1x1X2.

Tabla 2. Manejos fitosanitarios (MF) en los que se agruparon los diferentes pesticidas por ingrediente activo, tipo y concentración de formulación.

Año	Momento de aplicación*	Manejo fitosanitario (MF)
2015	1	tiametoxam+cyproconazol WG (300+300 g kg ⁻¹)–clorpirifos EC (480 g kg ⁻¹)–oxyfluorfen EC (240 g L ⁻¹)
	2	
	1	cyantraniliprole OD (100 g L ⁻¹)–glifosato SL (480 g L ⁻¹)
	2	
2016	1	pyraclostrobin EC (250 g L ⁻¹)–tiametoxam+clorraniliprole SC (200+100 g L ⁻¹)–glufosinato de amonio SL (150 g L ⁻¹)
	2	
	Sin aplicación de pesticidas (testigo absoluto)	
	1	flutriafol SC (125 g L ⁻¹)–2,4-D SP (800 g kg ⁻¹)
2		
2016	1	spiromesifen SC (240g L ⁻¹)–diuron WG (800 g L ⁻¹)–carbendazim SC (500 g L ⁻¹)
	2	
	Sin aplicación de pesticidas (Testigo absoluto)	

*1: Período de carencia para cada producto; 2: Mitad del período de carencia.

Tabla 3. Momento (número de días) de aplicación antes de la cosecha (día cero) para cada pesticida según el período de carencia (PC).

Año montaje	Pesticida	P.C. en la etiqueta comercial (días)	
		PC	Mitad PC
2015	clorpirifos ¹	21	11
	cyantraniliprole	7	4
	tiametoxam	14	7
	clorantraniliprole	14	7
	cyproconazol ²	56	28
	pyraclostrobin	7	4
	glufosinato de amonio ³	16	8
	oxyfluorfen ³	16	8
2016	glifosato ³	16	8
	spiromesifen	35	17
	flutriafol	30	15
	carbendazim	8	4
	2,4-d	15	7
	diuron	30	15

¹ El P.C. difiere según la casa comercial, se toma como referencia el más común.

² Al momento de realizar el experimento el producto comercial tenía un PC de 56 días, actualmente tiene 14 días.

³ En Colombia no tiene P.C., se toma el indicado en Centroamérica y el Caribe para el glufosinato de amonio.

Aplicación de los pesticidas. Para la aplicación se tomaron las recomendaciones de Cenicafé en cuanto a concentración o dosis del pesticida y el método de aplicación para cada uno de ellos (Tabla 4) (Benavides Machado, Gil Palacio, Constantino Chuaire, Villegas García, & Giraldo Jaramillo, 2013; Rivillas O., Serna Giraldo, Cristancho Ardila & Gaitán Bustamante, 2011; Salazar Gutiérrez & Hincapié Gómez, 2013). Previamente, se realizó la capacitación a los operarios y calibración de los equipos con el fin de asegurar que la cantidad de producto y cubrimiento fuera el correcto en el blanco a aplicar (frutos, hojas o suelo). Los pesticidas se aplicaron con equipos hidráulicos de espalda y palanca. Para los insecticidas y fungicidas fueron usadas boquillas de cono hueco TX-3 (190-200

cc min⁻¹) a una presión mínima de 33 psi (se usó válvula reguladora). Los herbicidas fueron asperjados con boquillas de cortina TeeJet 800050 (150 cc min⁻¹) a una presión mínima de 21 psi (se usó válvula reguladora). Con el producto tiametoxam + cyproconazol 600 WG, se utilizó un equipo adaptado para aplicaciones al suelo en forma de drench, con una descarga exacta de 50 cc, la aplicación se dirigió a la base del árbol de café. Cada tipo de pesticida se aplicó con un equipo diferente. Con el fin de evitar contaminación por deriva entre parcelas con tratamientos diferentes, se dejó un surco de por medio como borde. Para evitar el efecto de aguas contaminadas con pesticidas, estas se tomaron de los acueductos de los respectivos municipios en donde estaban ubicados los predios.

Tabla 4. Características de los pesticidas evaluados.

Año del montaje	Tipo de pesticida	Ingrediente activo	Concentración de aplicación
2015	Insecticida	clorpirifos	6,0 cc L ⁻¹
		cyantraniliprole	6,0 cc L ⁻¹
		tiametoxam + clorantraniliprole	1,4 cc L ⁻¹
	Fungicida	tiametoxam + cyproconazol	2,0 g L ⁻¹
		pyraclostrobin	0,6 cc L ⁻¹
		glufosinato de amonio	6,0 cc L ⁻¹
	Herbicida	oxyfluorfen	16,0 cc L ⁻¹
glifosato		12,0 cc L ⁻¹	
2016	Insecticida	spiromesifen	2,5 cc L ⁻¹
		flutriafol	5,0 cc L ⁻¹
	Fungicida	carbendazim	1,6 cc L ⁻¹
		2,4-d	4,0 g L ⁻¹
	Herbicida	diuron	10,0 g L ⁻¹

Cosecha y beneficio del café. La cosecha se realizó en los árboles efectivos, es decir, todos los de la parcela menos los surcos que separaban las parcelas. De la masa cosechada se llevaron a la Estación Experimental Naranjal entre 15 y 25 kg de café cereza para beneficio el mismo día de la cosecha, allí se despulpó en seco con equipos previamente lavados (para evitar contaminaciones cruzadas) y se dejó fermentar hasta el día siguiente, para el lavado se utilizó agua del acueducto municipal; el café se secó al sol en marquesina.

Manejo de las muestras. Una vez seco el café pergamino (10% a 12% de humedad), se tomó por cada MF, repetición y localidad, un volumen de café excelso (libre de pasillas) suficiente como para obtener una muestra de 2,5 kg de café verde. Estas muestras se empacaron en bolsas plásticas debidamente identificadas con localidad, MF y bloque, luego se transportaron hasta Cenicafé y allí se conservaron a -20°C

hasta el momento del envío para determinar la cantidad de residuos de pesticidas.

Análisis de residuos de pesticidas. La detección y cuantificación de los 14 ingredientes activos fue realizada en dos laboratorios: CROM-MASS (Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de Masas de la Universidad Industrial de Santander-Colombia) y AGQ Labs.

En el laboratorio CROM-MASS la preparación y el análisis de las muestras del grano verde de café se llevó a cabo según protocolo del Ministerio de Sanidad, Trabajo y Bienestar del Japón, Notificación No 499 (29/Nov/2005). Se utilizó un análisis multiresidual para pesticidas, los cuales se extrajeron, de acuerdo a sus propiedades químicas, por una de las siguientes dos técnicas analíticas: (a) cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de alta resolución con monitoreo selectivo de iones o GC-MS/

SIM (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry in Selective Ion Monitoring*). Por esta técnica se determinaron: clorpirifos, cyproconazol y oxyfluorfen; (b) cromatografía líquida de ultra alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas de alta resolución Orbitrap con ionización por electropulverización o UHPLC-ESI-Orbitrap-MS (*Ultra High Performance Liquid Chromatography–ElectroSpray Ionization–Orbitrap high-resolution Mass Spectrometry*). Con esta técnica se determinaron: clorantraniliprole, tiametoxam, spiromesifen, flutriafol, carbendazim, 2,4-D y diuron.

Con AGQ Labs, los pesticidas cyantraniliprole, pyraclostrobin, glufosinato de amonio y glifosato, se extrajeron de las muestras usando la técnica analítica de cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas de alta resolución o HPLC-MS-MS (*High Pressure Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*). Los residuos de cada compuesto se determinaron de acuerdo a metodología interna de extracción en fase sólida utilizando el procedimiento QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged & Safe*).

La detección y cuantificación de los plaguicidas encontrados por todas las técnicas (GC-MS/SIM, UHPLC-Orbitrap-MS o HPLC-MS-MS) se logró, en el primer caso, utilizando los iones específicos de cada uno de los analitos estudiados, y en el segundo caso, por el método de estándar externo para lograr la precisión óptima del método. Para glifosato y glufosinato se utilizaron protocolos específicos de extracción para cada molécula (métodos estandarizados internos del laboratorio).

Las muestras que registraron presencia de residuos con valores cuantificables (expresados en mg kg^{-1} de café verde) se compararon con los LMR establecidos para café verde por el Codex Alimentarius de la FAO/OMS (2019c), la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Estados Unidos (GPO U.S. Government Publishing Office, 2018), el Reglamento CE 396/2005 de la Comunidad Económica Europea (European Commission, 2016) y el Ministerio de Sanidad, Trabajo y Bienestar del Japón (JFCRF, 2019a) (Tabla 5). Para el presente estudio estos LMR se tomaron como los de referencia. El valor del residuo se consideró como la variable de respuesta.

Tabla 5. Nivel Máximo de Residuos de Pesticidas (LMR) en mg kg^{-1} (ppm) para café verde establecido por los principales compradores de café colombiano. Información actualizada a 2019.

Pesticida	Codex Alimentarius	Estados Unidos	Comunidad Económica	
			Europea	Japón
clorpirifos	0,05	N.D.*	0,05	0,05
cyantraniliprole	0,05	0,05	0,05	0,01***
tiametoxam	0,20	0,20	0,20	0,20
clorantraniliprole	0,05	0,40	0,02	0,40
spiromesifen	0,20	0,20	0,05	0,01**
cyproconazol	0,07	0,10	0,10	0,10
pyraclostrobin	0,30	0,30	0,30	0,30
flutriafol	0,15	0,15	0,15	0,20

Continúa...

...continuación.

Pesticida	Codex Alimentarius	Estados Unidos	Comunidad Económica	
			Europea	Japón
carbendazim	0,10	N.D.	0,10	0,10
glufosinato de amonio	0,10	N.D.	0,10	0,10
glifosato	N.D.	1,00	0,10	1,00
oxyfluorfen	N.D.	0,05	0,05	0,05
2,4-d	N.D.	N.D.	0,10	0,01**
diuron	N.D.	N.D.	0,05	0,02

*No definido para café verde.

**Para Japón, los LMR en pesticidas no estudiados tienen por defecto un valor de 0,01.

***Actualmente este valor se encuentra en 0,05. Se mantiene en este estudio el valor inicial establecido de 0,01.

Fuentes: FAO/OMS (2019c); GPO U.S. (2018); European Commission (2016); JFCRF (2019a).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos por los dos laboratorios, los valores registrados de los residuos permiten formar dos grupos de pesticidas: (1) concentración menor al nivel mínimo cuantificable (NMC) de cada uno de los analitos. No hubo detección o la cantidad fue tan pequeña que la técnica analítica utilizada no permitió cuantificar con certeza el resultado; (2) los restantes pesticidas tuvieron presencia de residuos igual o superior al NMC, pero por debajo de los LMR de referencia. La técnica analítica permitió confirmar el resultado con un 95% de confiabilidad. En adelante se consideran como muestras positivas.

La Tabla 6 muestra los resultados del análisis de trazas en el café verde proveniente de los lotes en donde se aplicaron los pesticidas, respetando el PC, y la Tabla 7 muestra los resultados cuando se trató el café con la mitad del PC. En ambas Tablas la segunda columna presenta el NMC que puede determinar la técnica analítica utilizada en la extracción y valoración de cada uno los residuos.

Ninguno de los pesticidas estudiados presentó un nivel de residuos igual o

superior a los LMR de referencia (Codex Alimentarius, Estados Unidos, Unión Europea y Japón). Los pesticidas clorpirifos, clorantraniliprole, tiametoxam, spiromesifen, cyproconazol, pyraclostrobin, glufosinato de amonio, oxyfluorfen y 2,4-D estuvieron en el primer grupo. En ninguna de las muestras analizadas se detectaron trazas de pesticidas cuando se aplicaron en cualquiera de los dos momentos: respetando el PC o a la mitad del mismo. Estos pesticidas pueden considerarse de bajo riesgo para afectar la calidad del café cuando se utilizan según las recomendaciones de Cenicafé.

Los restantes cinco pesticidas quedaron en el segundo grupo. El glifosato tuvo una muestra positiva (Tabla 6) y correspondió al momento cuando se aplicó respetando el PC; sin embargo, no hubo resultados positivos cuando se aplicó a la mitad del PC. Esto indicaría que, a pesar de haberse encontrado, es baja la probabilidad que este herbicida deje residuos. Tres pesticidas, flutriafol, carbendazim y diuron dieron muestras positivas en ambos momentos de aplicación (Tablas 6 y 7). En el caso de flutriafol, el 58% de las muestras fueron positivas cuando se respetó el PC y 66% cuando se aplicó a la mitad

del PC; adicionalmente, una muestra arrojó trazas (por debajo del NMC) cuando se aplicó respetando el PC. Para carbendazim fueron positivas el 92% y 100% de las muestras en cada momento de aplicación. El diuron mostró residuos cuantificables en cuatro muestras (10%); sin embargo, tuvo otras dos muestras con trazas de 0,0006 mg kg⁻¹, valores cercanos, pero por debajo del NMC (0,0007 mg kg⁻¹). Lo anterior indicaría que los resultados son consistentes y que los tres pesticidas pueden dejar residuos en el café verde, siendo flutriafol y carbendazim los de mayor probabilidad. Para el insecticida cyantraniliprole, tres de las doce muestras fueron positivas cuando se aplicó a la mitad del PC; no hubo registros cuando se aplicó respetando el PC.

Tomando los valores de referencia de la Tabla 5 y los valores mínimos y máximos cuantificados de los residuos en las muestras positivas cuando se aplicó respetando el PC (Tabla 6, columna 5), se puede analizar que en el caso del flutriafol, carbendazim, diuron y glifosato, los valores estuvieron, respectivamente, entre 10 y 33, 35 y 142, 16 y 41, 5 y 50 veces menos que los LMR de los países compradores de referencia en este estudio. Lo anterior muestra que, si bien estos cuatro pesticidas dejan residuos en el café verde, usándolos de manera correcta, respetando el PC, se necesitaría una cantidad importante adicional de cada uno de ellos para alcanzar o sobrepasar los LMR establecidos por el Codex Alimentarius, Estados Unidos, Unión Europea o Japón.

Tabla 6. Número de muestras de café verde con residuos cuantificables de pesticidas al aplicar respetando el PC. N=12

Pesticida	NMC (mg kg ⁻¹)	Número de muestras			Residuos cuantificados (mg kg ⁻¹)
		< NMC	≥ NMC < LMR	≥ LMR	
clorpirifos	0,0100	12	0	0	
cyantraniliprole	0,0100	12	0	0	
clorantraniliprole	0,0100	12	0	0	
tiametoxam	0,0020	12	0	0	
spiromesifen	0,0050	12	0	0	
cyproconazol	0,0100	12	0	0	
pyraclostrobin	0,0100	12	0	0	
flutriafol	0,0010	4	8	0	Entre 0,0060 y 0,0150
carbendazim	0,0001	1	11	0	Entre 0,0007 y 0,0028
glufosinato de amonio	0,0500	12	0	0	
glifosato	0,0100	11	1	0	0,0200
oxyfluorfen	0,0100	12	0	0	
2,4-d	0,0040	12	0	0	
diuron	0,0007	10	2	0	0,0012

Tabla 7. Número de muestras de café verde con residuos cuantificables de pesticidas al aplicar a la mitad del PC. N=12

Pesticida	NMC (mg kg ⁻¹)	Número de muestras			Residuos cuantificados (mg kg ⁻¹)
		< NMC	≥ NMC < LMR	≥ LMR	
clorpirifos	0,0100	12	0	0	
cyantraniliprole	0,0100	9	0	3*	0,010–0,020–0,025
clorantraniliprole	0,0100	12	0	0	
tiametoxam	0,0020	12	0	0	
spiromesifen	0,0050	12	0	0	
cyproconazol	0,0100	12	0	0	
pyraclostrobin	0,0100	12	0	0	
flutriafol	0,0010	5	7	0	Entre 0,004 y 0,015
carbendazim	0,0001	0	12	0	Entre 0,0002 y 0,0019
glufosinato de amonio	0,0500	12	0	0	
glifosato	0,0100	12	0	0	
oxyfluorfen	0,0100	12	0	0	
2,4-d	0,0040	12	0	0	
diuron	0,0007	10	2	0	Entre 0,0009 y 0,0016

* Al momento del recibo de los resultados (agosto de 2018), el LMR para cyantraniliprole en Japón estaba fijado en 0,01 mg kg⁻¹. Por tal razón, los residuos cuantificados superaban el LMR de dicho país. Este valor fue revisado y actualmente se estableció el LMR en 0,05 mg kg⁻¹

La ausencia de estudios similares, especialmente en cuanto a ingredientes activos de nueva generación, así como la referencia del período de carencia, no permiten comparar estos resultados y, de este modo, establecer si estos valores detectados son significativos o no. En todo caso, confirma los resultados de Cetinkaya *et al.* (1985) y Jacobs y Yess (1993) que no tuvieron muestras que superaran los NMC y los LMR. Sin embargo, el hecho que se detecten trazas de pesticidas exige recomendar el uso de los pesticidas de manera racional. Este trabajo evaluó una aplicación en los últimos 60 días antes de la cosecha, en ciertos momentos, bajo condiciones especiales, es posible que se deba realizar más de una aplicación, en este caso, se deberán tener mayores precauciones.

Esta investigación se realizó en localidades de tres departamentos representativos de la zona cafetera colombiana, buscando evaluar el efecto de las aplicaciones de los pesticidas en condiciones climatológicas y edáficas distintas y así poder entender lo que podría pasar en otras regiones cafeteras con condiciones similares. De igual modo, el estudio abarcó una cantidad importante de pesticidas utilizados en la producción de café, involucrando a los ingredientes de mayor uso en los tres principales tipos de agroquímicos (insecticidas, fungicidas y herbicidas). Fueron evaluadas 14 moléculas, nueve de ellas consideradas de nueva generación y de más reciente recomendación, y solo cinco pesticidas considerados tradicionales, como clorpirifos, diuron, carbendazim, glifosato y 2,4-D.

Este trabajo aporta evidencias, por primera vez, que un manejo racional de pesticidas, atendiendo para ello las recomendaciones técnicas de Cenicafé, permiten producir un café que no afecta la inocuidad por efecto de residuos de pesticidas, por lo tanto, es una herramienta para los caficultores, el Servicio de Extensión de la FNC, organizaciones gubernamentales y no gubernamentales interesadas en la calidad del café colombiano, así como compradores. Sin embargo, dado que la calidad puede afectarse en otras etapas del proceso productivo o de poscosecha, conviene adelantar estudios que permitan evaluar el efecto de aplicaciones adicionales en las últimas semanas antes de la cosecha, la incidencia de aguas contaminadas, el manejo inadecuado de pesticidas y la contaminación cruzada proveniente del beneficio y almacenamiento.

Este estudio permite concluir que cuando pesticidas como los del presente estudio son manejados de acuerdo a las indicaciones de Cenicafé, en cuanto a cantidad de producto comercial por aplicación, métodos, equipos y momentos de aplicación (incluido el respeto del período de carencia), no superan los niveles máximos de residuos establecidos en café verde por países compradores como Estados Unidos, Unión Europea, Japón u otros países en donde apliquen los LMR del Codex Alimentarius; sin embargo, existen riesgos de detectar trazas de pesticidas si estos se usan en tiempos menores al período de carencia.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Gerencia Técnica y Gerencia Comercial de la Federación Nacional de Cafeteros por la financiación de esta investigación; al Comité de Cafeteros del Quindío, a los Coordinadores de las Estaciones Experimentales y a las personas que participaron en las labores de

aplicación, beneficio y procesamiento de las muestras; a los auxiliares de la disciplina de Entomología: Faber de los Ríos, Diana Soraya Rodríguez, Juan Pablo Pimentel y Mauricio Jiménez. Esta investigación se realizó bajo el código de Cenicafé ENT105001.

LITERATURA CITADA

- Benavides, P., Gil, Z. N., Constantino, L. M., Villegas, C., & Giraldo, M. (2013). Plagas del café. Broca, minador, cochinillas harinosas y monalonia. En FNC-Cenicafé (Ed.), *Manual del cafetero colombiano: investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 2, pp. 215-260). Manizales: Cenicafé.
- Cetinkaya, M., Silwar, R., & Thieman, W. M. (1985). Organochlor-Pestizidruueckstaende in Kafeekirschen. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm*, 9, 33-36.
- European Commission. (2008a). *Monitoring of pesticide residues in products of plant origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein, 2006*. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide_residues/report_2006_en.pdf
- European Commission. (2008b). New rules on pesticide residues in food. Directorate-General for Health and Consumers. European Commission – B-1049 Brussels. Recuperado de https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_legis_factsheet_en.pdf
- European Commission. (2016). Pesticides database, 0620000: Coffee beans. Recuperado de <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=product.resultat&language=EN&selectedID=244>
- European Commission. (2019). RASFF. The Rapid Alert System for Food and Feed 2018 Annual Report. Recuperado de https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2018.pdf
- FAO/OMS. (2019a). Codex Alimentarius. International Food Standards: Maximum Residue Limits (MRLs). Recuperado de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/>
- FAO/OMS. (2019b). Codex Alimentarius. International Food Standards: Miembros. Recuperado de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/members/jp/>

- FAO/OMS. (2019c). Codex Alimentarius. International Food Standards: SB 0716–Coffee beans. Recuperado de http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities-detail/en/?c_id=240
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia–FNC. (2019). Estadísticas históricas, 2019. Cultivos de café en Colombia. Área cultivada–anual desde 2002 / Exportaciones colombianas de café. Volumen según destino–anual desde 2000–Valor de las exportaciones a todo destino–Total mensual. Recuperado de https://www.federaciondecafeteros.org/particulares/es/quienes_somos/119_estadisticas_historicas/
- GPO U.S. Government Publishing Office. (2018). Part 180 – Tolerances and exemptions for pesticide chemical residues in food. Recuperado de https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&SID=d8e3d38568d9d77f6068f4e1fbcd797&n=pt40.24.180&r=PART&ty=HTML#se40.26.180_140
- Hernández, R., Sisino, A., Ricardo, C., Llanes, M. N., Linares, C., & Lazo, A. (2003). Establecimiento de términos de carencia de plaguicidas en diferentes cultivos. *Fitosanidad (Cuba)*, 7(4), 27-37.
- International Coffee Organization. (2015). Historia del café. Recuperado de http://www.ico.org/ES/coffee_storyc.asp
- Jacobs, R. M., & Yess, N. J. (1993). Survey of imported green coffee beans for pesticide residues. *Food Additives & Contaminants*, 10(5), 575-577. <https://doi.org/10.1080/02652039309374180>
- Puerta, G. I. (1998). *Estudio del sabor fenólico en el café colombiano. Efecto de insecticidas, hongos, amontonamiento de café y broca en la calidad del café. Informe Anual de actividades Cenicafe 1997-1998*, QIN504, 42-77
- Redagícola. (2017). Misión difícil pero posible: Gestión de residuos en fruta de exportación–Redagícola. Recuperado de <http://www.redagricola.com/cl/mision-dificil-posible-gestion-residuos-fruta-exportacion/>
- Ribas, C., Pigati, P., & Almeida, P. R. D. (1974). Residuos de dieldrin o endosulfán en graos de café. *O Biológico (Brasil)*, 40(4), 120-122.
- Rigitano, R. L. O., Souza, J. C. D., & Moraes, M. L. (1989). Resíduos de aldicarbe e seus metabólitos tóxicos em café após a aplicação de aldicarbe 1 5G no solo em diferentes intervalos antes da colhe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 24(8), 955-959.
- Rivers, R. (2013). *Relevancia de la Inocuidad en el Comercio Agroalimentario de ALC: Cas...Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe*. Recuperado de <https://es.slideshare.net/FAONoticias/4-rodolfo-rivers>
- Rivillas, C. A., Serna, C. A., Cristancho, M. A., & Gaitán, A. L. (2011). *La roya del cafeto en Colombia. Impacto, manejo y costos de control, resultados de investigación. Boletín técnico Cenicafe*, 36, 1-51. Recuperado de <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/594>
- Romero, A. C., & González, A. (2012). Ensayo Piloto de Investigación Relacionado con la Determinación de Periodos de Carencia de Residuos de Plaguicidas en el Cultivo de Maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural; Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). *Documento de trabajo CIAT*, (218), 102.
- Salazar, L. F., & Hincapié, É. (2013). Manejo integrado de arvenses. En FNC-Cenicafe (Ed.), *Manual del cafetero colombiano: investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 2, pp. 117-142). Manizales: Cenicafe
- The Japan Food Chemical Research Foundation JFCRF. (2019a). Search engine for MRLs. Table of MRLs for Food Types: Coffee beans. Recuperado de https://db.ffcr.or.jp/front/food_gr_oup_detail?id=13300
- The Japan Food Chemical Research Foundation JFCRF. (2019b). The Japanese Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods (Enforcement on May 29, 2006). Maximum Residue Limits (MRLs) of Agricultural Chemicals in Foods: Uniform Limit: 0.01 ppm. Recuperado de <https://www.ffcr.or.jp/en/zanryu/the-japanese-positive/the-japanese-positive-list-system-for-agricultural-chemical-residues-in-foods-enforcement-on-may-29-.html>
- Torrado-Pacheco, A. (s.f.). Uso de plaguicidas y exigencias del mercado agroalimentario. Recuperado de http://www.ica.gov.co/getdoc/d3eef95-6146-412b-be83-e1e507db9cd6/Articulo_UsoDePlaguicidas.aspx
- Urbina, N. E., & Javed, Z. U. (1988). *Control de residuos de plaguicidas usados en café. Diez años de labores 1978-1988*. San José, Costa Rica: IICA-PROMECAFE.

EFFECTO DE DOS INDUCTORES FLORALES SOBRE LA FLORACIÓN Y PRODUCCIÓN DE CAFÉ

Carlos Andrés Unigarro Muñoz*, Lina Marcela Díaz Bejarano**, Jhon Félix Trejos Pinzón***

UNIGARRO M., C.A.; DÍAZ B., L.M.; TREJOS P., J.F. Efecto de dos inductores florales sobre la floración y producción de café. *Revista Cenicafé* 70(2):19-29. 2019

En algunos cultivos perennes el uso de inductores ha logrado incrementar la floración y, por ende, la producción de frutos; no obstante, en café es una alternativa poco explorada. En la presente investigación se evaluó el efecto de los inductores florales ácido giberélico y/o nitrato de potasio durante la inducción de nudos sobre la floración y producción en un genotipo de café variedad Castillo®. El estudio se realizó en la Estación Experimental Naranjal, localizada en Chinchiná, Caldas (Colombia), con plantas de café del genotipo CX2720 establecido a una densidad de 3.333 plantas/ha, con dos tallos por sitio. En un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones, se evaluaron los inductores de floración: ácido giberélico (GA₃ - 100 mg L⁻¹), nitrato de potasio (KNO₃ - 15 g L⁻¹), su combinación (GA₃ + KNO₃), además de un testigo sin aplicación. Las aplicaciones se realizaron en noviembre para afectar la floración del primer semestre (enero - junio) del siguiente año. Se registró el número de botones florales promedio por rama, la producción de café cereza y las tasas medias de crecimiento absoluto para diámetro de tallo, altura de tallo y el número de nudos plagiotrópicos. La aplicación de ácido giberélico (GA₃) y/o nitrato de potasio (KNO₃) no incrementó el número de botones florales, la producción de café cereza o el crecimiento vegetativo. El semestre de mayor precipitación disminuyó la sincronía floral entre los diferentes tratamientos respecto a los períodos más secos.

Palabras clave: *Coffea arabica* L., ácido giberélico, nitrato de potasio, botones florales, frutos.

EFFECT OF TWO FLORAL INDUCERS ON COFFEE FLOWERING AND YIELD

In some perennial crops, the use of inducers resulted in increased flowering and, therefore, fruit yield. However, this is an unexplored alternative in coffee. In this research, the effect of floral inducers gibberellic acid and / or potassium nitrate during the induction of nodes on the flowering and yield of a genotype of coffee variety Castillo® was evaluated. The study was carried out at the Naranjal Experimental Station of the National Coffee Research Center (Chinchiná, Caldas - Colombia) with genotype CX2720 coffee plants established at a density of 3,333 plants ha⁻¹ with two stems per site. In a randomized complete block design with five replications, the floral inducers were evaluated: gibberellic acid (GA₃ - 100 mg L⁻¹), potassium nitrate (KNO₃ - 15 g L⁻¹), its combination (GA₃ + KNO₃), in addition to a control without application. Applications were made in November to affect the flowering of the first semester (January - June) of the next year. The number of average flower blossoms per branch, the yield of cherry coffee and the average of absolute growth rates for stem diameter, stem height and number of plagiotropic nodes were recorded. The application of gibberellic acid (GA₃) and / or potassium nitrate (KNO₃) did not increase the number of flower blossoms, the yield of cherry coffee or the vegetative growth. The semester of higher precipitation decreased the flowering synchrony among different treatments with respect to dryer periods.

Keywords: *Coffea arabica* L., gibberellic acid, potassium nitrate, flower blossoms, fruits.

*Investigador Científico I. Disciplina de Fisiología Vegetal, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

**Asistente de Investigación hasta septiembre 2018. Disciplina de Biometría, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

***Asistente de Investigación. Disciplina de Experimentación, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

El café es la materia prima agrícola más reconocida en el mundo para propósitos comerciales y se cultiva en 56 países ubicados entre las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Asrat *et al.*, 1992; Pay, 2009; Mishra y Slater, 2012). Los agro-ecosistemas de café compensan su sustento mediante los ingresos que generan y los servicios ambientales que proporcionan (Castro-Tanzi *et al.*, 2014). La producción de Vietnam, Indonesia, Colombia y Brasil representa más del 50% del total mundial de café (ICO, 2018). En Colombia, el área dedicada al cultivo del café es de 911.238 hectáreas, con variedades resistentes a roya en el 76,3% del territorio (FNC, 2017), entre las cuales se destacan la variedad Castillo® y sus componentes regionales, desarrollados por el Centro Nacional de Investigaciones de Café-Cenicafé (Alvarado *et al.*, 2005; Alvarado *et al.*, 2009; Cortina *et al.*, 2012).

La producción de café es un proceso fisiológico que involucra distintos cambios fenológicos descritos por la escala fenológica BBCH, propuesta por Arcila *et al.* (2002). La etapa reproductiva comienza desde la inducción e iniciación floral (estado BBCH51) cuando solo se observa un hinchamiento en la axila de la hoja, del cual posteriormente emergerán yemas diferenciadas de 2,0 mm, recubiertas por un mucílago castaño (estado BBCH53). Al continuar su desarrollo, de la yema emerge una inflorescencia multifloral, con las flores cerradas y adheridas por sus corolas (estado BBCH57). Una vez las corolas logran separarse y las flores verdes y cerradas alcanzan un tamaño de 4,0 a 6,0 mm, cesan su crecimiento y entran en un período de latencia (estado BBCH58), luego con las lluvias, se rompe la latencia reiniciando el crecimiento de las flores que alcanzan entre 6,0 a 10,0 mm, aun cerradas y blanquecinas. Finalmente se produce la apertura floral o antesis (estados BBCH60-69) (Arcila *et al.*, 2002; Camayo *et al.*, 2003). El fruto alcanza

su madurez organoléptica (estado BBCH88) entre 180 a 330 días después de la floración (ddf) dependiendo de la variedad y la oferta ambiental (Salazar *et al.*, 1994; Arcila *et al.*, 2002), momento en el cual es cosechado y se denomina comúnmente como café cereza.

En especies frutales las condiciones ambientales, la actividad hormonal, el contenido de carbohidratos y la nutrición mineral, afectan los procesos de inducción, diferenciación y apertura de flores (Reddy y Majmudar, 1985; Bernier, 1988). En este contexto, la sincronización natural de los patrones reproductivos (floraciones) con la distribución de la precipitación en la zona cafetera colombiana, propicia múltiples eventos de floración sobre un largo período de tiempo, debido a las lluvias presentes durante todo el año (Trojer, 1968; Crisosto *et al.*, 1992; Drinnan y Menzel, 1994; Camayo *et al.*, 2003). Esto repercute en múltiples recolecciones selectivas de frutos maduros de café realizadas de forma escalonada durante el tiempo de cosecha (Upegui y Valencia, 1972; Unigarro *et al.*, 2018).

En especies perennes, la aplicación foliar de inductores e inhibidores florales pretende anticipar o retrasar el proceso de floración, respectivamente, bajo determinadas condiciones de cultivo (Rodríguez, 1989; Chaikiattiyos *et al.*, 1994). En café se han realizado algunos estudios para evaluar el efecto del ácido giberélico (GA₃) sobre la magnitud y la distribución de la floración y la producción. Es así como Browning (1973) sugiere que el aumento endógeno del contenido de GA₃ es el estímulo que necesitan las yemas florales para romper la dormancia y superar parcialmente la necesidad de un período seco de magnitud moderada (Schuch *et al.*, 1990). La aplicación de GA₃ (100 mg L⁻¹) indujo la uniformidad de yemas florales y aumentó la apertura floral (Ramaiah y Venkataraman, 1988); la cual

siempre fue mayor cuando se realizaron dos aplicaciones de GA₃, obteniendo la mejor respuesta a la concentración de 100 mg L⁻¹, con diferencias relativamente pequeñas entre una o dos aplicaciones (64,6% y 73,4%) (Alvim, 1958). El GA₃ (100 mg L⁻¹) en combinación con un período seco estimularon la antesis, posiblemente por compensación de la baja concentración de GA₃ endógeno, así como, por la aplicación de GA₃ sin estrés a una concentración de 200 mg L⁻¹ (Schuch *et al.*, 1992).

La aplicación foliar de nitrato de potasio (KNO₃) es comúnmente utilizada en latitudes bajo el trópico y sobre el trópico para estimular la floración en mango (Núñez-Elisea *et al.*, 1996; Davenport y Núñez-Elisea, 1997;). Barba (1974) observó un aumento en la floración de mango y consecuentemente en la producción por árbol, al rociar KNO₃, que promovió la formación de la enzima nitrato reductasa, que reduce el nitrato a nitrito, lo cual favorece la producción de aminoácidos como la metionina, un precursor directo del etileno. Este interviene en el desarrollo floral, desde su inicio hasta la senescencia (Klee y Clark, 2004). En árboles de mango, la aplicación de 40 g L⁻¹ KNO₃ favoreció la inducción de floral, la retención de frutos y la producción por árbol (Yeshitela *et al.*, 2005; Oosthuysen, 2015). Kulkarni (2004) sugiere que cuando se aplica KNO₃ las yemas se sensibilizan al estímulo floral presente en los tallos.

En este contexto, la caficultura busca incrementar la rentabilidad del negocio cafetero y una de las vías es a través del estímulo del proceso de floración, el cual a su vez incide en la producción. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de los inductores florales ácido giberélico y/o nitrato de potasio durante la inducción de nudos sobre la floración y producción en un genotipo de café variedad Castillo®.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Estación Experimental Naranjal del Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé), ubicada en Chinchiná, Caldas, Colombia (04°58' N y 75°39' W, a 1381 m de altitud). En el experimento se usó el genotipo CX2720 de café (*Coffea arabica* L.), con una edad de tres años, establecido a una densidad de 3.333 plantas/ha (1,5 m entre plantas x 2,0 m entre surcos). La fertilización edáfica se realizó de acuerdo con el análisis de suelos, así: año 2015: primer semestre: 800 kg ha⁻¹ de 25-4-24 y segundo semestre: 950 kg ha⁻¹ de 23-3-19-3; año 2016: primer semestre: 1.000 kg ha⁻¹ de 25-4-24 y segundo semestre: 1.280 kg ha⁻¹ de mezcla Urea-DAP-KCl; año 2017: primer semestre: 800 kg ha⁻¹ de 25-4-24, no se fertilizó en segundo semestre por su eliminación. La enmienda se realizó con cal dolomítica (1.200 kg ha⁻¹) entre julio-agosto, todos los años.

Los inductores (tratamientos) evaluados fueron: ácido giberélico (GA₃), nitrato de potasio (KNO₃), su combinación (GA₃ + KNO₃) y un testigo absoluto (sin aplicación alguna). En la Tabla 1 se presentan las dosis y los momentos de aplicación. Las aplicaciones se realizaron durante los años 2014, 2015 y 2016 en noviembre, para incrementar el número de nudos en estado de inducción (estado BBCH51-52), que luego se diferenciarán (BBCH53), repercutiendo así, en un mayor número de nudos en preantesis (estado BBCH 59) para el próximo año, una vez iniciaran las lluvias de enero o febrero. El efecto de los productos sobre la inducción en nudos se evaluó previamente bajo condiciones semi-controladas (Cenicafé, 2013), por lo tanto, para el presente estudio en el campo no se evaluó directamente la inducción en nudos, sino su repercusión en la floración y la producción. El momento de aplicación de los tratamientos fue seleccionado con base en la ocurrencia en el

campo de la inducción en nudos, descrito por Camayo *et al.* (2003). Los productos fueron rociados sobre las ramas, a una distancia de 10 cm del objetivo, con una bomba manual operada a 30 psi.

La parcela experimental se conformó por 20 árboles, los seis centrales conformaron la parcela efectiva. Los tratamientos se evaluaron bajo un diseño de bloques completos al azar (BCA) con cinco repeticiones, los cuales se distribuyeron en el campo de acuerdo con el gradiente de fertilidad del suelo y su pendiente.

El número de botones florales en estado de preantesis (Estado BBCH-59) o “velón” por nudo se contó semanalmente en tres ramas del tercio medio superior, de acuerdo con la metodología establecida por Rendón *et al.* (2008), en tres árboles de la parcela efectiva durante el primer semestre (enero-junio), el cual abarca la floración principal para la zona central del país. La floración se evaluó en el estado BBCH-59, porque corresponde a flores completamente desarrolladas próximas a abrir (antesis). Se prefirió evaluar este estado, porque en antesis los pétalos florales solo permanecen tres días antes de caer, esta característica puede conllevar a obviar datos, dada la frecuencia semanal de las evaluaciones en el campo. La recolección de los frutos de café cereza (Estado BBCH 88) en la parcela efectiva se

realizó en el segundo semestre (julio-diciembre), por su correspondencia a las floraciones de primer semestre. Tanto la floración como la producción de café cereza se evaluaron en los años 2015, 2016 y 2017. La altura de la planta, el diámetro del tallo y el número de nudos ortotrópicos o “cruces” se registraron al inicio y al final del experimento.

Las variables evaluadas fueron: producción de café cereza por parcela (kg), número de botones florales promedio por rama (número) y las tasas medias de crecimiento absoluto (\bar{G}) para diámetro de tallo (mm mes^{-1}), altura de tallo (cm mes^{-1}) y el número de nudos plagiotrópicos (número/mes). Las \bar{G} se calcularon de acuerdo con la Ecuación <1> (Hunt, 1990).

$$\bar{G} = (V_2 - V_1) / (t_2 - t_1) \quad <1>$$

Donde:

\bar{G} : tasa media de crecimiento absoluto

V_i : valor de la variable en el tiempo t_i .

El análisis de varianza y la prueba de Tukey al nivel de significancia del 5%, fueron utilizados para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos. Adicionalmente, con el número de botones florales por semana y el total registrado en

Tabla 1. Dosis de los tratamientos evaluados y momento de aplicación.

Tratamiento	Ramas con nudos en inducción (estado BBCH 51 a 52)	
	Mes	Dosis
Ácido giberélico (GA ₃)	Noviembre	GA ₃ (100 mg L ⁻¹)
Nitrato de potasio (KNO ₃)	Noviembre	KNO ₃ (15 g L ⁻¹)
GA ₃ + KNO ₃	Noviembre	GA ₃ (100 mg L ⁻¹) + KNO ₃ (15 g L ⁻¹)
Testigo	-	-

el primer semestre (las 25 primeras semanas del año) se calcularon los porcentajes de floración por semana. La sincronía entre los tratamientos se estimó siguiendo la metodología de Koenig *et al.* (2003), como la media de todos los pares de coeficientes de correlación de Pearson (r_1) de los porcentajes de floración por semana. Paralelamente, la precipitación diaria se acumuló semanalmente. Tanto los porcentajes de floración como la precipitación fueron analizados de forma descriptiva, mediante gráficas tipo serie y aguja. Los análisis estadísticos se realizaron con los programas Base SAS® y SAS/STAT® del software SAS® OnDemand for Academics: Studio (SAS Institute, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento vegetativo

Las tasas de crecimiento absoluto para las características diámetro del tallo, altura y número de nudos plagiotrópicos no presentaron

diferencias estadísticas entre los tratamientos ($Pr \geq 0.05$) (Tabla 2). Del mismo modo, Flores *et al.* (2005) no encontraron diferencias significativas con respecto al testigo absoluto al evaluar las variables altura de tallo y longitud de ramas cuando se aplicó GA₃ (200 g L⁻¹) en *C. arabica*. En mango “Tommy Atkins” tampoco se observó efecto en la brotación generativa vegetativa, al aplicar KNO₃ (35 g L⁻¹) (Cárdenas y Rojas, 2003). Es de resaltar que el tratamiento GA₃ + KNO₃ mostró mayor reducción en el crecimiento vegetativo (10% menos en \bar{G} -DIAM, 21% menos en \bar{G} -ALT y 15% menos en \bar{G} -NP) con referencia al testigo (Tabla 2). De forma similar, Raghuramulu y Purushotham (1987) observaron una reducción en la altura de la planta al aplicar 50 mg L⁻¹ de GA₃ en *Coffea canephora* Pierre cv. S.274.

Distribución de la floración

En la Figura 1 se presenta la distribución del porcentaje de floración por semana, junto con la precipitación correspondiente. En el

Tabla 2. Efecto de tres tratamientos y el testigo sobre la tasa de crecimiento absoluto para las variables diámetro de tallo (\bar{G} -DIAM), altura de tallo (\bar{G} -ALT) y número nudos plagiotrópicos (\bar{G} -NP) en el genotipo de café CX2720 (*C. arabica*).

Tratamiento	\bar{G} -DIAM (mm mes ⁻¹)		\bar{G} -ALT (cm mes ⁻¹)		\bar{G} -NP (#/mes)	
Ácido giberélico (AG)	0,60 ± 0,03	a	2,11 ± 0,22	a	0,69 ± 0,06	a
Nitrato de potasio (KNO ₃)	0,60 ± 0,07	a	2,10 ± 0,14	a	0,66 ± 0,02	a
AG + KNO ₃	0,52 ± 0,05	a	1,80 ± 0,10	a	0,64 ± 0,04	a
Testigo	0,58 ± 0,03	a	2,30 ± 0,23	a	0,76 ± 0,05	a
\bar{x}	0,58		2,08		0,68	
RCME	0,11		0,41		0,11	
Pr>F	0,64		0,33		0,38	

\bar{x} : media general; RCME: raíz del cuadrado medio del error; Pr>F: significancia del análisis de varianza. Letras iguales en misma columna no difieren significativamente entre tratamientos (Prueba de Tukey, $\alpha = 0,05$). Los datos de los tratamientos son las medias ± error estándar de cinco observaciones.

año 2015, el principal pico de floración del semestre se presentó en la cuarta semana, con valores que oscilaron entre el 63% y 68% para los tratamientos. Esto lo propició la ausencia de lluvias en las tres primeras semanas, que posteriormente se interrumpió por una precipitación de 120 mm, en la cuarta semana. Luego, en la quinta, séptima y onceava semanas se presentaron picos de floración secundarios con valores entre 5% y 12%. Hasta la doceava semana se alcanzó entre el 91% y el 95% del total de las flores registradas en todos los tratamientos, sin diferencia notable entre ellos durante el período evaluado. La sincronía floral tuvo un coeficiente de correlación promedio de $r_{\bar{x}} = 0,99$, de un máximo posible igual a 1,00. El primer semestre de 2015 se destacó por ser el más seco respecto a los años 2016 y 2017, con una pluviosidad de 989,0 mm, ratificando que la ocurrencia de mínimo 7,0 mm de lluvia en el decenio, es suficiente para inducir la antesis en café (Zacharias *et al.*, 2008).

La pluviosidad del primer semestre de 2016 fue de 1.168 mm y las lluvias en mayor frecuencia durante las diez primeras semanas, atenuaron el estrés en las plantas de café, hecho que retardó el pico de floración principal respecto al anterior año. No obstante, durante este tiempo la menor precipitación (218 mm) favoreció levemente al pico principal de floración (entre 68% y 75%), con relación a las lluvias de las diez primeras semanas de 2015 (246 mm). En la quinta y quinceava semana se presentaron otros picos de floración, los cuales no superaron el 15%. La diferencia entre los tratamientos y el testigo no fue acentuada, esto se puede corroborar al observar la alta sincronía floral representada por el alto $r_{\bar{x}}$ (Figura 1). El paso de los botones florales a flores ocurre después de un período de déficit hídrico, seguido de precipitación y consecuentemente una menor amplitud térmica (Nascimento *et al.*, 2008). El estrés hídrico

es requerido para romper la dormancia de las yemas florales de café, la apertura floral (antesis) y el desarrollo normal de las flores (Piringer y Borthwick, 1955; Alvim, 1960; Schuch *et al.*, 1992).

En el 2017 la precipitación de las diez primeras semanas fue casi el doble (426 mm) de lo registrado en 2016, motivo por el cual, el pico principal de floración (décima semana) se redujo notablemente (entre el 24% y el 36%) y se postergó más que en los años 2015 y 2016. En este pico, el tratamiento $GA_3 + KNO_3$ obtuvo un 10% más de flores que el testigo, lo cual no fue relevante al considerar que Alvim (1958) y Schuch *et al.* (1992) encontraron diferencias significativas entre tratamientos de GA_3 y el testigo, solo cuando la diferencia entre ambos superó el 20%, en el porcentaje de floración. Luego, en la onceava semana, un segundo pico de importancia se observó, con valores entre 14% y 19%. Otros cuatro picos con valores inferiores al 12%, se registraron en las semanas 8, 12, 17 y 25. El primer semestre de 2017 al ser el más húmedo (1.430 mm) de los tres evaluados también presentó el mayor número de eventos de floración y la menor sincronía floral con el menor $r_{\bar{x}}$ (Figura 1). La apertura floral en café está naturalmente sincronizada por los períodos secos y de lluvia (Cannell, 1985). De acuerdo con Clearwater *et al.* (1999), cuando se presentan múltiples eventos de lluvia durante la temporada de floración el desarrollo de las yemas florales no se sincroniza, incrementando el número de eventos florales, lo cual puede hacer menos efectiva la acción del GA_3 (Schuch *et al.*, 1990).

La variable número de botones florales promedio por rama no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos ($Pr \geq 0,05$), en los años 2015, 2016 y 2017 y su total (Tabla 3). Esta respuesta fue similar a

la obtenida en la distribución porcentual de la floración (Figura 1). En mango la aplicación de KNO_3 no afectó la inducción floral en ramas (Davenport y Núñez-Eliséa, 1997); en feijoa (*Acca sellowiana* [O. Berg] Burret) la aplicación de 15 g L^{-1} de KNO_3 no mostró diferencias estadísticas respecto

al testigo en la inducción floral, y dosis superiores al 20 g L^{-1} generaron síntomas de fitotoxicidad (García *et al.*, 2008). Davenport (1998) menciona que el KNO_3 promueve la brotación de yemas, mas no es un agente inductor de floral, porque los brotes pueden ser vegetativos.

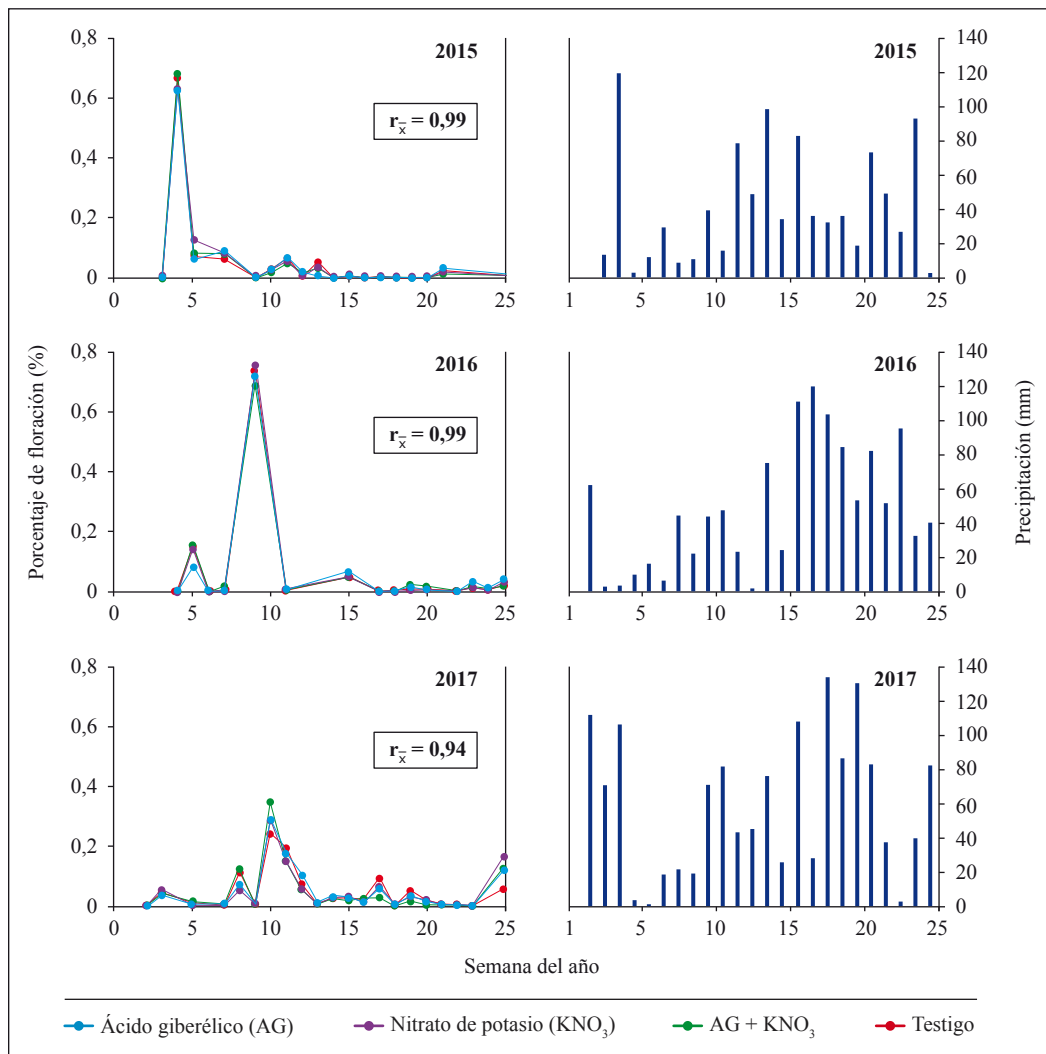


Figura 1. Efecto de tres tratamientos y el testigo en el porcentaje de floración del genotipo de café CX2720 (*C. arabica*) [izquierda] y precipitación semanal en la Estación Experimental Naranjal [derecha], para los años 2015, 2016 y 2017 durante el primer semestre del año (enero – junio). La sincronía floral se representa mediante el promedio de los coeficientes de correlación de Pearson (r_x).

Tabla 3. Efecto de cuatro tratamientos en el número de botones florales promedio por rama (NBFR) en el genotipo de café CX2720 (*C. arabica*).

Tratamiento	NBFR (#)							
	2015		2016		2017		Total	
Ácido giberélico (AG)	89 ± 20	a	100 ± 6	a	75 ± 10	a	265 ± 33	a
Nitrato de potasio (KNO ₃)	122 ± 14	a	124 ± 22	a	57 ± 7	a	303 ± 28	a
GA ₃ + KNO ₃	104 ± 23	a	90 ± 15	a	52 ± 8	a	246 ± 32	a
Testigo	99 ± 18	a	124 ± 16	a	49 ± 7	a	272 ± 36	a
\bar{x}	104		110		58		271	
RCME	47		39		20		82	
Pr > F	0,73		0,42		0,22		0,74	

\bar{x} : media general; RCME: raíz del cuadrado medio del error; Pr > F: significancia del análisis de varianza. Letras iguales en misma columna no difieren significativamente entre tratamientos (Prueba de Tukey, $\alpha=0,05$). Los datos de los tratamientos son las medias \pm error estándar de cinco observaciones.

Producción de café cereza

La producción no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($Pr \geq 0,05$), al evaluarse anualmente o en su totalidad (Tabla 4). La producción en el segundo semestre de 2017 fue menor (Tabla 4), como consecuencia de las bajas floraciones registradas en el primer semestre del mismo año (Tabla 3). En Hawaii la producción de café cereza por planta no fue afectada por la aplicación de GA₃ o ethephon (Clearwater *et al.*, 1999). Martin (1994) no encontró diferencias significativas en la producción de café cereza o de café pergamino seco, al evaluar tres concentraciones de KNO₃ (2%, 4% y 6%) aplicadas después de la floración.

En conclusión, el uso de inductores florales como ácido giberélico (GA₃) y/o nitrato de potasio (KNO₃) en café durante el proceso de inducción de nudos no repercutió significativamente en la cantidad de botones florales o en la distribución de la floración

respecto al testigo. La producción de café cereza y el crecimiento vegetativo tampoco fueron afectados de forma significativa. No obstante, debe resaltarse que la combinación de GA₃ + KNO₃ disminuyó la tasa de crecimiento absoluta para la variable altura en 21%. El aumento de la precipitación en 2017 redujo la sincronía floral entre los diferentes tratamientos respecto a los períodos más secos, se observó un incremento en el número de eventos florales para el 2017.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (FNC) y el Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé). Los autores agradecen al auxiliar de investigación Mario Franco Arcila por aportar su experiencia y al personal de apoyo en la Estación Experimental Naranjal por su valiosa colaboración en el registro de la información.

Tabla 4. Efecto de cuatro tratamientos en la producción de café cereza por parcela (PCC) en el genotipo de café CX2720 (*C. arabica*).

Tratamiento	PCC (kg)							
	2015		2016		2017		Total	
Ácido giberélico (GA ₃)	39 ± 4	a	48 ± 9	a	9 ± 1	a	97 ± 13	a
Nitrato de potasio (KNO ₃)	37 ± 2	a	44 ± 4	a	9 ± 1	a	89 ± 5	a
GA ₃ + KNO ₃	44 ± 8	a	39 ± 8	a	8 ± 2	a	90 ± 16	a
Testigo	35 ± 2	a	47 ± 6	a	7 ± 1	a	89 ± 8	a
\bar{x}	39		44		8		91	
RCME	9		15		3		22	
Pr>F	0,50		0,76		0,46		0,93	

\bar{x} : media general; RCME: raíz del cuadrado medio del error; Pr>F: significancia del análisis de varianza. Letras iguales en misma columna no difieren significativamente entre tratamientos (Prueba de Tukey, $\alpha=0,05$). Los datos de los tratamientos son las medias \pm error estándar de cinco observaciones.

LITERATURA CITADA

- Alvarado, A.G., Moreno, G.E., Montoya, E.C. & Alarcón, R. (2009). Calidad física y en taza de los componentes de la variedad Castillo® y sus derivadas regionales. *Revista Cenicafé*, 60(3), 210-228.
- Alvarado, A.G., Posada H.E. & Cortina, H.A. (2005). Castillo: Nueva variedad de café con resistencia a la roya. *Avances Técnicos Cenicafé*, 337, 1-8. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/401>
- Alvim, P.D.T. (1958). Estímulo de la floración y fructificación del café por aspersiones con ácido giberélico. *Turrialba*, 8(2), 64-72.
- Alvim, P.D.T. (1960). Moisture stress as a requirement for flowering of coffee. *Science*, 132(3), 342-354.
- Arcila, J., Buhr, L., Bleiholder, H., Hack, H., Meier, U. y Wicke, H. (2002). Application of the extended BBCH scale for the description of the growth stages of coffee (*Coffea spp.*). *Annals of Applied Biology*, 141, 19-27.
- Asrat, S., Shivashankar, K., Venkataramanian, D., Thimma Raju, K. & Jaganath, M.K. (1992). Effect of growth regulators on fruit setting of coffee (*Coffea arabica* L.) cv. S. 795. *Journal of Coffee Research*, 22(1), 45-55.
- Barba, R. (1974). Induction of flowering of mango by chemical spray. *Crop Science Society of the Philippines Proceedings*, 5, 154-160.
- Bernier, G. (1988). The control of floral evocation y morphogenesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39, 175-219.
- Browning, G. (1973). Flower bud dormancy in *Coffea arabica* L. I. Studies of gibberellin in flower buds and xylem sap and of abscisic acid in flower buds in relation to dormancy release. *Journal of Horticultural Science*, 48, 29-41.
- Camayo, G., Chaves, B., Arcila, J., & Jaramillo, A. (2003). Desarrollo floral del café y su relación con las condiciones climáticas de Chinchiná, Caldas. *Revista Cenicafé*, 54(1), 35-49.
- Cannell M.G.R. (1985) Physiology of the Coffee Crop. En: Clifford M.N., Willson K.C. (Ed.), Coffee botany, biochemistry and production of beans and beverage. Springer, Boston, MA
- Castro-Tanzi, S., Flores, M., Wannerc, N., Dietschd, T.V., Bankse, J., Ureña-Retana, N. & Chandler, M. (2014). Evaluation of a non-destructive sampling method and a statistical model for predicting fruit load on individual coffee (*Coffea arabica*) trees. *Scientia Horticulturae*, 167, 117-126.

- Cárdenas, K. & Rojas, E. (2003). Efecto del paclobutrazol y los nitratos de potasio y calcio sobre el desarrollo del mango 'Tommy Atkins'. *Bioagro*, 15(2), 83-90.
- Cenicafé. (2013). Informe anual Cenicafé 2013. Recuperado de https://www.cenicafe.org/es/publications/InformeAnual_2013.pdf
- Chaikiattiyos, S.C., Menzel, M. & Rasmussen, T.S. (1994). Floral induction in tropical fruit trees: Effects of temperature and water supply. *HortScience*, 69, 397-415.
- Cortina, H. A., Moncada, M. P. & Herrera, J.C. (2012). VARIEDAD CASTILLO® Preguntas frecuentes. *Avances Técnicos Cenicafé*, 426, 1-12. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/410>
- Crisosto, C.H., Grantz, D.A. & Meinzer, F.C. (1992). Effects of water deficit on flower open in coffee (*Coffea arabica* L.). *Tree Physiology*, 10, 27-139.
- Davenport, T. (1998). Management of mango flowering and vegetative growth in the tropics. Universidad de Florida, CIET. Centro de Documentación CCI, 18 p.
- Davenport, T.L. & Núñez-Elisea, R. (1997). Reproductive physiology. En: LITZ, R.E. (ed.). *The Mango, Botany, Production and Uses* (pp.69-146). CABI.
- Drinnan, J.E. & Menzel, C.M. (1994). Synchronization of the anthesis and enhancement of vegetative growth in coffee (*Coffea arabica* L.) following water stress during floral initiation. *Journal of Horticultural Science*, 69(5), 841-849.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia–FNC. (2017). Atlas cafetero de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Flores, C.A., De la Torre, W., Monroig, M., & González, W. (2005). Gibberellic acid, paclobutrazol, fluoridone, abscisic acid affecting flowering and fruit set of coffee. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 89(3-4), 159-168.
- García, O.J., Dueñez, E.Y., Fischer, G., Chaves, B., & Quintero, O. (2008). Efecto del nitrato de potasio, fosfato de potasio y ethephon en la inducción floral de la feijoa o goiabeira serrana (*Acca sellowiana* [O. Berg] Burret). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(3), 577-584.
- International Coffee Organization–ICO. (2018). Total production by all exporting countries. Recuperado de: <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf>.
- Hunt, R. (1990). Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners. London: Springer Science y Business Media.
- Klee, H.J. & Clark, D.G. (2004). Ethylene signal transduction in fruits and flowers. p. 369-412. En: Davies, P.J. (ed.). *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action*. Dordrecht: Kluwer Publishers
- Koenig, W.D., Kelly, D., Sork, V.L., Duncan, R.P., Elkinton, J.S., Peltonen, M.S. & Westfall, R.D. (2003). Dissecting components of population-level variation in seed production and the evolution of masting behavior. *Oikos*, 102, 581-591.
- Kulkarni, V.J. (2004). The tri-factor hypothesis of flowering in mango. *Acta Horticulturae*, 645, 61-70.
- Clearwater, M.J., Meinzer, F.C., & Osgood, R.V. (1999). Use of Ethephon and Gibberellic Acid for Synchronizing Fruit Ripening in Hawaiian Coffee Orchards. *Coffee Report HARC*, 3, 1-9.
- Martin, G.A. (1994). Efecto de diferentes concentraciones y frecuencias de aplicación foliar de nitrato de potasio (KNO₃) en la producción de café (*Coffea arabica* L.) Variedad Colombia. (Tesis de pregrado). Universidad de Caldas, Manizales.
- Mishra, K. y Slater, A. (2012). Recent Advances in the Genetic Transformation of Coffee. *Biotechnology Research Internacional*, 2012, 1-17.
- Nascimento, M. N., Alves, J. D., Soares, A. M., Castro, E. M., Magalhães, M. M., Alvarenga, A. A., & Silva, G.H. (2008). Alterações bioquímicas de plantas e morfológicas de gemas de cafeeiro associadas a eventos do florescimento em resposta a elementos meteorológicos. *Ciência Rural*, 38(5), 1300-1307.
- Núñez-Elisea, R., Davenport, T.L. y Caldeira, L.M. (1996). Control of bud morphogenesis in mango (*Mangifera indica* L.) by girdling, defoliation and temperature modification. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 71, 25–39.
- Oosthuysen, S.A. (2015). Spray application of kno₃, low biuret urea, and growth regulators and hormones during and after flowering on fruit retention, fruit size and yield of mango. *Acta Horticulturae*, 1075, 135-141.
- Pay, E. (2009). The market for organic and fair-trade coffee. Rome: FAO
- Piringer, A.A. & Borthwick, H.A. (1955). Photoperiodic responses of coffee. *Turrialba*, 5, 72-77.
- Raghuramulu, Y. & Purushotham, K. (1987). Flower induction in juvenile coffee (*Coffea canephora* Pierre) seedlings. *Journal of Coffee Research*, 17(1), 31-39.

- Ramaiah, P.K. & Venkataramanan, D. (1988). Studies on the effect of gibberellic acid on arabica coffee in India. *Journal of Coffee Research*, 18(1), 47-51.
- Reddy, S.E. & Majmudar, A.M. (1985). Tracking phosphorus patterns in mango (*Mangifera indica* L.) and possible relations to floral induction. *Fertilizer Research*, 6, 225-234.
- Rendón, J.R., Arcila, J., & Montoya, E.C. (2008). Estimación de la producción de café con base en los registros de floración. *Revista Cenicafe*, 59(3), 238-259.
- Rodríguez, A. (1989). Inducción y diferenciación floral en frutales tropicales y subtropicales: una especie de revisión. En: Simposio Producción Forzada En Frutales (17-19). México: Colegio de Postgraduados.
- Salazar, M.R., Chaves, B., Riaño, N. M., Arcila, J., & Jaramillo, A. (1994). Crecimiento del fruto de café (*Coffea arabica* L) var. Colombia. *Revista Cenicafe*, 45(2), 41-50.
- Schuch, U.K., Fuchigami, L.H., & Nagao, M.A. (1990). Gibberellic acid causes earlier flowering and synchronizes fruit ripening of coffee. *Plant Growth Regulation*, 9(1), 59-64.
- Schuch, U.K., Fuchigami, L.H., & Nagao, M.A. (1992). Flowering, ethylene production, and ion leakage of coffee in response to water stress and gibberellic acid. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(1), 158-163.
- SAS Institute. (2015). SAS® OnDemand for Academics: User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Trojer, H. (1968). The phenological equator for coffee planting in Colombia (Vol 7). En: Agroclimatological methods proceeding of the Reading Symposium (pp.107-117). París: UNESCO.
- Unigarro, C.A., Flórez, C.P., Oliveros, C.E., & Cañon, M. (2018). Efecto de cuatro inhibidores de etileno en la maduración del fruto de café (*Coffea arabica* L.) durante pre cosecha. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 12(2), 500-507.
- Upegui, G. & Valencia, G. (1972). Anticipación de la maduración de la cosecha de café, con aplicaciones de Ethrel. *Revista Cenicafe*, 23(1), 19-26.
- Yeshitela, T., Robbertse, P.J., & Stassen, P.J.C. (2005). Potassium nitrate and urea sprays affect flowering and yields of 'Tommy Atkins' (*Mangifera indica* L.) mango in Ethiopia. *South African Journal of Plant and Soil*, 22, 28-32.
- Zacharias, A.O., De Camargo, M.B.P., & Fazuoli, L.C. (2008). Modelo agrometeorológico de estimativa do início da florada plena do cafeeiro. *Bragantia*, 67(1), 249-256.

EFFECTO DE MEZCLAS Y UNIDAD DEL ÁREA DEL GENOTIPO SOBRE EL INCREMENTO PROGRESIVO DE *Hemileia vastatrix* BERK. Y BR.

Juan Carlos Arias Suárez*

ARIAS S., J.C. Efecto de mezclas y unidad del área del genotipo sobre el incremento progresivo de *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. Revista Cenicafé 70(2):30-44. 2019

La durabilidad de la resistencia para una enfermedad de alto impacto económico como la roya del café (*H. vastatrix*) es un elemento clave para la sostenibilidad de *Coffea arabica* L. Para alcanzarla, se planteó la diversidad genética como estrategia. El objetivo de esta investigación fue validar, usando evaluaciones entre 1995 y 2017 en dos poblaciones, el efecto que tienen las mezclas y la unidad de área de genotipo (UAG) sobre el progreso de *H. vastatrix* en derivados de Caturra x Híbrido de Timor 1343/1.574. La población uno (P1) conformada por una mezcla diversa de genotipos establecidos aleatoriamente en 1977, vs. la población dos (P2) establecida en 1991, conformada por mezcla de genotipos dispuestos en surcos de cuatro plantas. Los resultados obtenidos indican una rápida presencia de razas compatibles con todos los genotipos, que incrementaron su nivel a través del tiempo. No obstante, en P1 se estabilizó en el estrato bajo y medio del árbol, mientras que en P2 continuó su avance hasta afectar todos los estratos. La prueba de suma de rangos de Wilcoxon mostró diferencias altamente significativas ($p=0.001$) en el 55% de las evaluaciones realizadas, donde períodos altamente favorables para la enfermedad redujeron temporalmente el efecto de la mezcla de genotipos. Las observaciones confirman el efecto estabilizador de esta estrategia y las implicaciones desfavorables cuando la UAG es alta. Estas concuerdan con los registrados en los campos comerciales y se espera que la estrategia elegida permita una resistencia duradera, ante el actual aumento en Colombia del área cultivada en estas variedades.

Palabras clave: *Coffea arabica*, cultivar compuesto, resistencia a enfermedades, pérdida resistencia, diversidad genética.

EFFECT OF MIXTURES AND GENOTYPE AREA UNIT ON THE PROGRESSIVE INCREASE OF *Hemileia vastatrix* BERK. Y BR.

Resistance durability for a disease with high economic impact such as coffee leaf rust (*H. vastatrix*) is a key element for the sustainability of *Coffea arabica* L. To achieve it, genetic diversity was considered as a strategy. The goal of this research was to validate, using evaluations between 1995 and 2017 in two populations, the effect of mixtures and genotype area unit (GAU) on the progress of *H. vastatrix* in Caturra x Timor Hybrid 1343 / 1.574 derivatives. Population one (P1) consisted of a diverse mixture of genotypes, randomly established in 1977, vs. population two (P2) established in 1991, that consisted of a mixture of genotypes arranged in rows of four plants. The results indicate a rapid presence of races compatible with all the genotypes, which increased their level over time. However, in P1 it was stabilized in the low and medium strata of the tree, while in P2 it continued to advance until it affected all the strata. The Wilcoxon rank sum test showed highly significant differences ($p=0.001$) in 55% of the evaluations carried out, in which highly favorable periods for the disease temporarily reduced the effect of the genotypes mixture. The observations confirm the stabilizing effect of this strategy and the unfavorable implications when the GAU is high, which coincides with the records in commercial fields, and thus the chosen strategy is expected to allow a durable resistance, given the current increase in Colombia of the area cultivated in these varieties.

Keywords: *Coffea arabica*, multiline cultivar, disease resistance, resistance breakdown, genetic diversity.

*Asistente de investigación. Disciplina de Mejoramiento Genético, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, Manizales, Colombia.

El recorrido histórico por la búsqueda de resistencia genética a la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk y Bromme) contrasta con la rapidez con la que la enfermedad presenta capacidad para vencerla. En India, Srinivasan y Narasimhaswamy (1975) hacen referencia a este hecho, donde a causa de la enfermedad, variedades como Old Chik, Coorg y Kent fueron reemplazadas. Caso similar ha sido registrado recientemente con variedades como Costa Rica 95, en la cual se han observado zonas de Colombia donde ha perdido su resistencia (Cortina, Moncada y Herrera, 2012).

Las características de estos ejemplos, y los existentes en otras especies cultivadas, indican que el uso de variedades genéticamente homogéneas conduce a la rápida selección de razas con la capacidad de vencerla, existiendo excepciones (Mundt, 2002). Una de las estrategias para el control de enfermedades es el uso de mezclas de genotipos (Browning y Frey, 1969), propuesta como un intento para reducir la presión de selección hacia razas de patógenos que puedan vencer la resistencia de los cultivos (Garret y Mundt, 1999). En este tipo de sistemas, el éxito de un patógeno estará determinado por su desempeño en todas las líneas que conforman la mezcla, y la posible selección de patotipos con amplios rangos de infectividad limitaría el aumento de su agresividad (Burdón, Barret, Rebetzke y Thrall, 2014).

Las ventajas del uso de esta estrategia para alcanzar una protección duradera del cultivo frente a patógenos han sido ampliamente discutidas (Browning y Frey, 1969; Wolfe, 1985; Mundt, 2002; Burdón *et al.*, 2014). De acuerdo con estos autores, los mecanismos por los cuales actúa la mezcla de genotipos incluye: una barrera física para la propagación de inóculo entre plantas de diferentes genotipos, dilución del inóculo compatible inicial al

incrementar la distancia entre plantas de un mismo genotipo, inducción de resistencia e inhibición de razas virulentas por competencia. Sin embargo, para que los mecanismos descritos operen debe presumirse que el tejido de la planta hospedante y el inóculo del patógeno estén completamente en mezcla en el espacio (Garret y Mundt, 1999). En este sentido, de acuerdo con Wolfe (1985), el arreglo espacial ideal es aquel en que plantas susceptibles a una misma raza del patógeno no estén adyacentes, si esto no ocurre, entonces cada grupo servirá para multiplicar el inóculo más rápidamente e incrementar su tasa de dispersión a través del campo.

La mezcla mecánica de genotipos agrónomicamente homogéneos con genes de resistencia diversos ha sido ampliamente usada para el manejo de enfermedades, especialmente en cereales (Mundt, 2001). No obstante, en cultivos perennes y semiperennes donde el área ocupada por cada individuo es considerable, el uso de esta estrategia ha sido cuestionada, debido a su facultad para retener el inóculo producido, lo cual puede reducir la capacidad del efecto de las mezclas (Mundt y Leonard, 1985). En contraste a este planteamiento, en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) el uso de la variedad compuesta Colombia ha mostrado ser altamente efectivo en el manejo de la roya del cafeto (Moreno y Alvarado, 2000). De acuerdo con los autores, la diversidad que posee le confiere estabilidad a través del tiempo en el control de la enfermedad. La aplicación de la diversidad genética para el manejo de enfermedades limitantes en este tipo de cultivos ha sido también descrita por Didelot, Brun y Parisit (2007) en manzana (*Malus x domestica*) y otros por Mundt (2002).

Para Moreno y Alvarado (2000), la variabilidad en la incidencia de *H. vastatrix* en la mezcla de genotipos resistentes presenta una oscilación menor en comparación a los

considerados susceptibles, produciéndose el efecto conocido como amortiguador o búfer. En este sentido, Johnson (1984) estableció tres parámetros para cuantificar la eficacia de la resistencia: período de tiempo durante el cual es usada, área ocupada y la presencia de un ambiente favorable para el desarrollo de la enfermedad. Ante estos parámetros, es de considerar que el período analizado por Moreno y Alvarado (2000) podría ser considerado corto (1994 – 1999), donde el área en variedades resistente no superaba el 27% (Federación Nacional de Cafeteros-FNC, 1997) y, por lo tanto, menores valores de incidencia podrían ser esperados. En la actualidad, la aplicación de los parámetros establecidos por Johnson (1984) toman gran importancia para la caficultura colombiana, después de 35 años de uso de la estrategia de la mezcla de genotipos, ocupando el 80% de su área cafetera (FNC, 2018), y sometida a condiciones ambientales extremas. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue validar el efecto de la mezcla de genotipos sobre el progreso de la roya del café, utilizando 22 años de evaluación de la enfermedad en dos poblaciones de igual origen genético, contrastantes en diversidad y unidad de área del genotipo (UAG). Esta información es de valioso interés para los programas de mejoramiento genético en la especie, especialmente para la caficultura colombiana, ante el aumento del área cafetera en variedades resistentes y la presencia de variantes compatibles con los genes de resistencia utilizados para en el manejo la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la validación del efecto de la mezcla de genotipos y la unidad de área del genotipo sobre el progreso de la roya del café (*H. vastatrix*), se evaluaron dos poblaciones con genotipos avanzados (F4 y F5) provenientes

del cruzamiento de la variedad Caturra, susceptible, por el Híbrido de Timor 1343/I.574, fuente de resistencia (Tabla 1). La primera población (P1), establecida en 1977, estuvo conformada por 900 plantas F4, provenientes de 30 familias F3 (30 plantas para cada una de ellas) con diferentes patrones de segregación para los cinco genes conocidos de resistencia del Híbrido de Timor, agrupados en cinco grupos fisiológicos (GF) establecidos por el CIFC (Rodríguez, Bettencourt y Rijo, 1975). En esta población, el 58% de los individuos pertenece al GF A, con al menos cinco genes de resistencia (S_{H5} , S_{H6} , S_{H7} , S_{H8} , S_{H9}) y resistente a todas las razas conocidas para la época, el 31% al GF 1 (S_{H5} , S_{H6} , S_{H7} , S_{H9}), el 0,1% al GF 2 (S_{H5} , S_{H8}), el 3,0% al GF 3 (S_{H5} , S_{H6} , S_{H9}), el 1,0% al GF R (S_{H6}) y el 1,0% al GF E (S_{H5} , grupo susceptible), siendo los individuos restantes resistentes, sin estar asignados a un GF determinado. Los genotipos se establecieron de forma aleatoria en el campo, utilizando distancias de siembra de 1,0 m entre plantas y 2,0 m entre surcos.

La segunda población (P2), establecida a partir de 1991, estuvo conformada por la mezcla de 350 genotipos F4 y F5, pertenecientes al GF A, e incluyó 120 genotipos derivados a partir de las familias F3 evaluadas en la P1. Los genotipos se establecieron en surcos individuales de cuatro plantas (clones) cada uno, con distancias de siembra de 1,0 m entre plantas y 2,5 m entre surcos. Su distribución no obedeció a algún diseño experimental en particular; no obstante, podría ser considerado como una mezcla organizada de genotipos, donde el área ocupada por cada uno de ellos (10 m²) fue superior al ocupado por cada individuo de la P1 (2,0 m²). Ambas poblaciones se ubicaron en la Estación Experimental Naranjal (Chinchiná, Caldas) en parcelas no adyacentes, separadas por una distancia de 500 m aproximadamente entre poblaciones. En ellas se realizó el manejo agronómico

del cultivo, siguiendo las recomendaciones técnicas de Cenicafé.

El período de evaluación analizado estuvo comprendido entre 1995 y 2017, con dos evaluaciones por año, realizadas en condiciones altamente favorables para el desarrollo de la enfermedad. Teniendo en cuenta que la enfermedad se detectó en la región posterior al establecimiento de la P1, en esta inicialmente se realizaron observaciones de presencia/ausencia, y solo a partir de 1995 se inició un programa de evaluación sistemático en ambas poblaciones. Para la medición de la resistencia se utilizó la escala de campo de Eskes y Toma-Braghini (1981), que considera el árbol como unidad de observación, asignando valores comprendidos entre 0-9, de acuerdo a la frecuencia de hojas con pústulas de roya y su posición en los diferentes estratos del árbol. En la escala valores de 0-1 se consideran como altamente resistentes, mientras que valores entre 2-9 equivalen a un aumento progresivo de la enfermedad. Sin embargo, para el análisis los valores obtenidos en cada genotipo se agruparon en las siguientes categorías de reacción: resistentes (0 y 1), sin lesiones esporulantes, hasta la presencia de una rama infectada el tercio inferior de árbol; moderadamente resistentes (2 y 3), hay un aumento en la frecuencia de pústulas, sin superar el tercio inferior del árbol; moderadamente susceptibles (4 y 5), se observa una alta frecuencia de pústulas el tercio inferior, y menor en el tercio medio o superior; susceptibles (entre 6 y 9), hay pústulas de la enfermedad en todos los estratos del árbol, siendo el valor 7, el promedio observado en variedades susceptibles para Brasil al momento de la cosecha (Eskes y Toma-Braghini, 1981).

Del total de plantas evaluadas en P1, se seleccionaron para el análisis el 55,5% de las mismas, que corresponden a aquellas donde hubo un registro continuo de la información a través del tiempo. En el caso de P2, se

evaluaron las cuatro plantas que conformaban el genotipo, no obstante, para el análisis se tomó la máxima calificación asignada por genotipo en cada periodo. De esta manera, el valor corresponde al máximo nivel que puede alcanzar la enfermedad en el genotipo, bajo unas condiciones determinadas.

Para establecer la independencia estadística de la incidencia por roya entre poblaciones, se tomaron las observaciones realizadas en cada período, sobre los genotipos derivados de siete familias F3, comunes para P1 y P2, y aplicada la prueba de suma de rangos de Wilcoxon, utilizando el software estadístico SAS versión 9.4 (SAS Institute, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las poblaciones se establecieron con objetivos diferentes a los analizados, no obstante, su respuesta frente a la roya (*H. vastatrix*), en las evaluaciones realizadas entre 1995 y 2017, permitieron identificar un comportamiento diferencial, teniendo en cuenta un mismo origen genético. La enfermedad arribó al país en 1983 (Leguizamón, Baeza, Fernández, Moreno, Castillo y Orozco, 1992), época para la cual la P1 ya había sido establecida y, por lo tanto, permitió evidenciar de manera práctica el proceso de colonización de la enfermedad en genotipos seleccionados. En esta población, para 1985 el porcentaje de incidencia de la enfermedad no superaba el 4,0%, donde las familias A.293 y A.209, con un porcentaje de segregantes para el GF E mayor al 20%, aportaron en gran medida a la incidencia observada. A este grupo fisiológico pertenecen las variedades que fueron tradicionalmente cultivadas en el país (Típica y Caturra), con susceptibilidad a la raza II de roya, la de mayor difusión en el mundo y la primera detectada en el país (Leguizamón *et al.*, 1984). Para 1989, el porcentaje de genotipos con roya alcanzaba el 10%, debido posiblemente a la

Tabla 1. Genealogía de las familias F3, establecidas en la P1 y P2, número de genotipos evaluados y familias comunes para ambas poblaciones.

F1	Genotipos en la P1			Genotipos en la P2			F3	F2	F1	F2	F3	Genotipos en la P1	Genotipos en la P2
	F2	F3	F1	F2	F3	F1							
AR.1324	PL.989	A.28	22	0	0	Tr.958	PL.2221	AW.3089				0	2
AR.1322	PL.1406	A.40	19	0	0	Tr.957	PL.2205	AW.2724				0	3
AR.1322	PL.1406	A.41*	11	22	22	Tr.957	PL.2205	AW.2842				0	3
AR.1321	PL.1302	A.137	18	0	0	M.2392	PL.2094	B.1096				0	9
AR.1322	PL.1409	A.151	19	0	0	M.2392	PL.2092	B.1159				0	2
AR.1322	PL.1409	A.153	22	0	0	M.2392	PL.2092	B.1160				0	4
AR.1322	PL.1386	A.168	18	0	0	M.2392	PL.2092	B.1340				0	2
AR.1322	PL.1386	A.170*	14	14	14	M.2392	PL.2054	B.1322				0	12
AR.1322	PL.1402	A.192*	10	26	26	M.2392	PL.2054	B.1330				0	2
AR.1322	PL.1404	A.203	12	3	3	M.2391	PL.2036	B.1027				0	22
AR.1322	PL.1404	A.206	17	0	0	M.2391	PL.2036	B.1029				0	3
AR.1322	PL.1378	A.208	26	0	0	M.2391	PL.2036	B.1030				0	20
AR.1322	PL.1378	A.209	17	0	0	M.2391	PL.2036	B.1224				0	1
AR.1324	PL.1000	A.219*	18	20	20	M.2391	PL.2030	B.1141				0	1
AR.1324	PL.1000	A.221	15	0	0	M.2391	PL.2030	B.1144				0	3
AR.1324	PL.1000	A.222*	13	4	4	M.2391	PL.2030	B.1147				0	2
AR.1322	PL.1372	A.240*	18	19	19	M.2391	PL.2030	B.1148				0	2
AR.1322	PL.1372	A.241	15	1	1	M.2391	PL.2030	B.1281				0	1
AR.1322	PL.1382	A.248	18	0	0	M.2391	PL.2030	B.1289				0	7

Continúa...

...continuación.

F1	Genotipos en la P1			Genotipos en la P2			F3	F2	F1	F2	F3	Genotipos en la P1	Genotipos en la P2
	F2	F3	Genotipos en la P1	F2	F3	Genotipos en la P2							
AR.1322	PL.1378	A.293	23	1	M.2391	PL.2030	B.1290	0	11				
AR.1322	PL.1404	A.321	17	1	M.2387	PL.1979	AX.2383	0	4				
AR.1322	PL.1404	A.322	13	1	M.2387	PL.1979	B.1171	0	8				
AR.1322	PL.1404	A.323	15	0	M.2387	PL.1979	B.1176	0	3				
AR.1322	PL.1386	A.388	21	0	M.2386	PL.1902	B.1233	0	6				
AR.1322	PL.1386	A.394	21	0	M.2386	PL.1902	B.1239	0	7				
AR.1324	PL.1000	A.399	13	1	M.2386	PL.1889	B.1361	0	10				
AR.1324	PL.1000	A.403	11	0	M.2386	PL.1889	B.988	0	4				
AR.1324	PL.1000	A.404*	12	7	M.2386	PL.1859	B.1315	0	6				
AR.1324	PL.989	A.427	18	0	M.2386	PL.1859	B.1320	0	6				
AR.1322	PL.1392	A.437	15	0	M.2386	PL.1859	B.991	0	7				
M.2383	PL.767	B.1047	0	7	M.2386	PL.1859	B.995	0	5				
M.2383	PL.767	B.1308	0	2	M.2386	PL.1859	B.996	0	1				
M.2383	PL.707	AX.2342	0	3	M.2386	PL.1859	B.997	0	17				
Tr.958	PL.2228	AW.2593	0	2	M.2386	PL.1859	B.998	0	13				
Tr.958	PL.2228	AW.2599	0	3	M.2386	PL.1859	B.999	0	1				
Tr.958	PL.2228	AW.2982	0	2	BM.339	AY.2557	DT.197	0	3				
Tr.958	PL.2221	AW.2965	0	3	H.2147	AT.1409	BT.1601	0	2				

* Familias seleccionadas para análisis estadístico

presencia de razas compatibles con el gen S_H6 (GF R), las cuales habían sido observadas esporádicamente desde 1986 en el diferencial para este GF (Castillo y Leguizamón, 1992), confirmado posteriormente por Gil y Ocampo (1998). Para 1995, el 17,4% de los 500 individuos seleccionados en la P1 presentaban pústulas de la enfermedad, incidencia similar a la observada cuando se consideraba toda la población (17,6%).

En el caso de la P2, la primera evaluación realizada (1995) indicó una incidencia del 8,5%, siendo más baja que la observada en la P1. Para esta población, es de considerar que los genotipos fueron seleccionados por pertenecer al GF A, con al menos cinco genes de resistencia y, por lo tanto, resistente a todas las razas de roya conocidas para la época, mantenidas en la colección del Centro de Investigaciones de la Roya del Café (CIFC) en Oeiras, Portugal. De acuerdo con lo anterior, la presencia de genotipos con presencia de la enfermedad en la P2 es un indicativo de la existencia de razas o variantes, diferentes a las existentes en el CIFC, compatibles con estos genes de resistencia. En este sentido, evaluaciones realizadas por Alvarado y Cortina (1997) confirman este hecho, donde a pesar de que las pruebas de laboratorio del CIFC indicaban la predominancia de individuos de este GF, en el campo eran atacados por la enfermedad. Al respecto, Rozo, Escobar, Gaitán y Cristancho (2012) indican que los aislamientos de *H. vastatrix* presentes en Colombia poseen una baja diversidad genética, descendientes posiblemente de la raza II inicialmente detectada, que difieren genéticamente de los conservados en el CIFC, incluyendo la raza II proveniente de Brasil.

En ambas poblaciones la incidencia de la enfermedad continuó en aumento progresivo, alcanzando el 100% de los genotipos en un periodo inferior a cinco años (1999). El corto

tiempo transcurrido entre la aparición de la enfermedad en ambos tipos de población, una altamente diversa (P1) y otra con un número mayor de genes en cada genotipo (P2), y su generalización parece contradecir las afirmaciones de Eskes (1989) y Castillo y Leguizamón (1992). Estos autores indican que las razas de la enfermedad con la capacidad de atacar genotipos con genes de resistencia provenientes del Híbrido de Timor parecen ocurrir con lentitud, a diferencia de los genes provenientes de *C. arabica* (S_H1, S_H2 y S_H4).

Un factor de gran importancia que posiblemente influyó de manera significativa en la presión de selección hacia razas o variantes compatibles con los genes provenientes del Híbrido de Timor fue el aumento en el área cultivada en variedades con este fondo genético en la región. De acuerdo con la FNC (1997), para 1996 alcanzaban el 27% del área cafetera (234.000 ha), que se concentraban en la zona de influencia donde fueron establecidas las poblaciones bajo estudio, pioneras en la adopción. En este sentido, Alvarado y Moreno (2005) en muestreos realizados en cultivos comerciales de la zona sembrados con variedades resistentes, en 1999-2001 y 2005, encontraron que la incidencia había pasado de 39,1% a 71,0% en este periodo. Este hecho demostró la complejidad de las poblaciones del patógeno existentes en Colombia, y en particular aquellas compatibles con los factores de resistencia provenientes del Híbrido de Timor, resultado de la presión de selección ejercida con su adopción.

Es de anotar que la presencia de síntomas de la enfermedad en un genotipo específico no significa *per se* pérdida de su resistencia, debido a características propias del patógeno, la cual aumenta progresivamente la incidencia y severidad a través del tiempo. En este sentido, la agrupación de los valores asignados en las cuatro categorías de reacción definidas,

permite denotar el incremento progresivo de la incidencia de la enfermedad en cada población (Figuras 1 y 2).

Para la P1 se observa la disminución progresiva a través del tiempo en la proporción de plantas consideradas como resistentes, con un cambio notable posterior al año 2007, donde pasa del 60% al 27%. En la P2, esta disminución es más pronunciada, resaltando dos períodos de importancia, 1998 – 2000 y 2002 – 2008, donde la proporción de resistentes se redujo del 89% al 60% y del 54% al 21%, respectivamente. Para ambas poblaciones, las reducciones observadas coinciden con los eventos de La Niña registrados para la zona, donde la precipitación tuvo un incremento del 76% y 33%, respectivamente (Jaramillo, 2018). Para Cristancho, Rozo, Escobar, Rivillas y Gaitán (2012), durante estos períodos se proporcionaron las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo del patógeno,

debido a la presencia continua de nubes que incrementaron la precipitación y disminuyeron la radiación solar y la amplitud térmica. A pesar de que para ambas poblaciones a partir de 1999 se registraban variantes de *H. vastatrix* compatibles con todos los genotipos, su avance ante similares condiciones climáticas y de manejo fue superior en la P2. Posterior a la generalización de variantes (1999), las poblaciones fueron sometidas a procesos de renovación propios del manejo agronómico del cultivo, condición propia de los sistemas de producción en el país, que de acuerdo con Rozo *et al.* (2012) contribuyen a imponer barreras que limitan el aumento y dispersión de inóculo. No obstante, para el evento de La Niña del año 2007, el entorno altamente favorable, permitió el avance de la enfermedad y, por lo tanto, valores superiores en la escala de evaluación para ambas poblaciones. En este sentido, Rozo *et al.* (2012) quienes estudiaron la diversidad genética y la agresividad de las

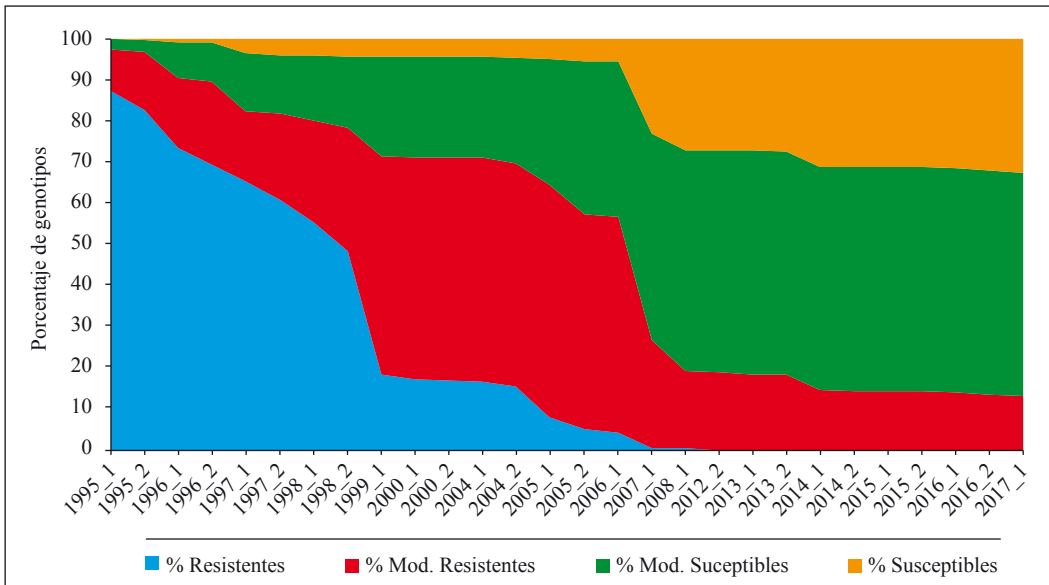


Figura 1. Aumento progresivo de la roya del café (*H. vastatrix*) sobre los 500 genotipos seleccionados pertenecientes a 30 familias, establecidos en forma aleatoria, agrupados en cuatro escalas de reacción, bajo condiciones naturales de infección en el periodo comprendido entre 1995 – 2017 (Población 1).

poblaciones de *H. vastatrix* existentes antes y después de este período, señalaron ausencia de diferencias en estos aspectos. De esta manera concluyen que la epidemia observada en Colombia durante este período, se relacionó más con la existencia de un entorno favorable, que con la aparición de nuevas variantes o por aumento en su agresividad.

Una diferencia notable entre poblaciones está directamente relacionada al incremento del porcentaje de genotipos considerados como susceptibles (calificaciones mayores a 6 en la escala de campo). En ambas poblaciones la diferencia puede considerarse significativa entre 2007 y 2010, donde el porcentaje de genotipos aumentó del 5,6% al 27% en la P1, y del 15% al 57% en la P2. Para la P1, es de anotar que los genotipos en esta categoría no continuaron en aumento significativo, alcanzando para 2017 el 32%, mientras que, para la P2 la proporción de

genotipos para esta categoría alcanzó el 70% en este período.

La P1 está conformada por una mezcla ampliamente diversa de combinaciones en genes de resistencia, donde cada planta puede representar un genotipo determinado, y la probabilidad de que dos genotipos con los mismos factores ocurran simultáneamente es baja. Entre tanto, la P2 está conformada por una mezcla de genotipos seleccionados pertenecientes a 44 familias F3, donde cuatro plantas adyacentes representan un genotipo, y al ser establecida sin un diseño particular hay mayor probabilidad que genotipos con similares factores de resistencia estén adyacentes. No obstante, las variedades obtenidas en Cenicafé (Alvarado *et al.*, 2005; Castillo y Moreno, 1988; Flórez *et al.*, 2018; Moreno, 2002), son conformadas por un esquema similar, donde el número de familias F3 que las conforman varía entre 7 y 23. Por lo tanto, es posible

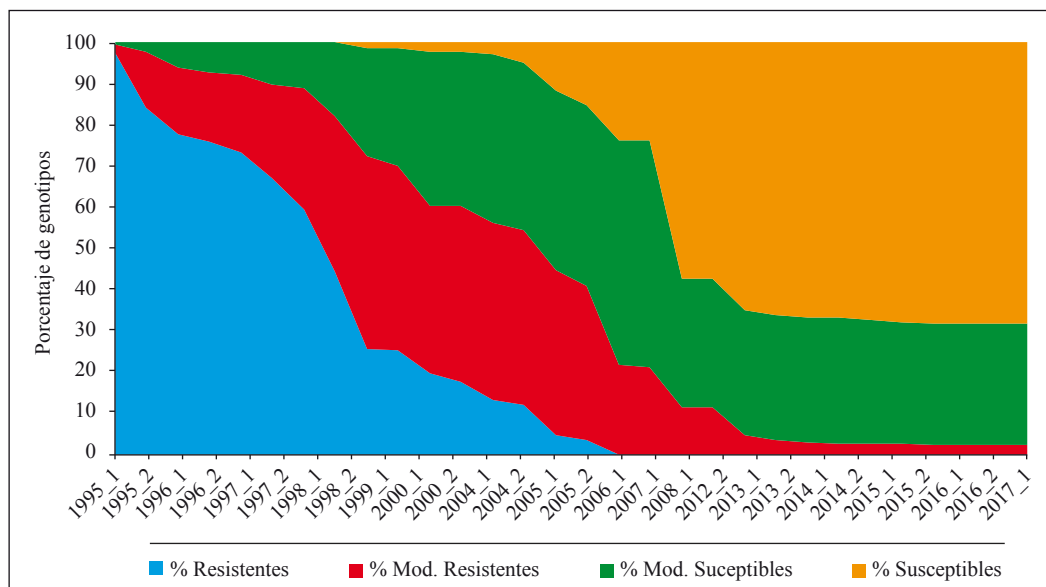


Figura 2. Incremento progresivo de la roya del caféto (*H. vastatrix*), sobre genotipos seleccionados establecidos en líneas de cuatro plantas (clones), agrupados en cuatro escalas de reacción, bajo condiciones naturales de infección en el período comprendido entre 1995 – 2017 (Población 2).

inferir que las diferencias observadas entre poblaciones, en relación al progreso de la enfermedad, pueden estar directamente ligadas al efecto ejercido por el área del genotipo. En primer lugar, *H. vastatrix* es un patógeno policíclico, especializado en café, que se propaga predominantemente de manera asexual (Gil, 2003). Este hecho sumado a que el área que ocupa cada planta es considerable, permite que una alta proporción de la infección observada se deba a autoinfección (inóculo producido en el mismo genotipo), comportamiento esperado en este tipo de planta (Garret y Mundt, 1999). La condición descrita tiene el potencial de mantener una presión selectiva sobre el patógeno, aumentando así su agresividad cuando el nivel de autoinfección es alto y genotipos compatibles con la enfermedad están más agregados en el espacio (Burdón *et al.*, 2014). En segundo lugar, debe ser considerado que el grado de aloinfección (inóculo proveniente de otro genotipo), en estados iniciales de la enfermedad y del cultivo puede ser bajo. Esto debido a que factores ambientales de los que depende (viento, lluvia, humedad) interactúan con características del cultivo (densidad, pendiente), de la planta (fenología, arquitectura) y la posición espacial del inóculo en el individuo (Burdón *et al.*, 2014).

No obstante, al existir inóculo compatible con cada uno de los genotipos en ambas poblaciones, el aumento inicial de la enfermedad puede deberse en mayor proporción a autoinfección; a medida que esta progresa, aumenta también el gradiente de dispersión hacia otros individuos, dándose de esta manera en la P1 el efecto de la mezcla de genotipos sobre el progreso de la enfermedad señalado por Browning y Frey (1969), Wolfe (1985), Mundt (2002) y Burdón *et al.* (2014). Entre tanto, para la P2 la disposición de cuatro clones de un mismo genotipo permitió que el intercambio de inóculo en estados avanzados

de la enfermedad se diera entre ellos, dando continuidad al avance de la enfermedad y, por lo tanto, las diferencias observadas en relación a la P1. En este sentido Mundt y Leonard (1986) indican que, en teoría la mezcla de genotipos es menos efectiva para el control de una enfermedad a medida que los individuos que comparten iguales genes de resistencia están más agregados; es decir, menores niveles de enfermedad pueden observarse en mezclas al azar de genotipos versus mezclas de filas de genotipos, tal como se observó en las dos poblaciones analizadas. Las anotaciones realizadas coinciden con las reportadas por Koizumi (2001) en la variedad multilínea de arroz Sasanishiki, donde los daños ocasionados por *Magnaporthe grisea* (añublo del arroz) eran considerablemente mayores cuando sus componentes se sembraban de forma individual en líneas adyacentes en comparación a su mezcla. Este fenómeno también ha sido observado en avena (Mundt y Leonard, 1986), trigo (Brophy y Mundt, 1991; Akanda y Mundt, 1996) y sorgo (Ngugi, King, Holt y Julian, 2001), entre otros casos (Mundt, 2002). En este sentido, Burdón *et al.* (2014) indican que, si entre el individuo donante de inóculo y el individuo receptor no existen diferencias en términos de resistencia, la aloinfección es, en sentido selectivo, igual a la autoinfección y por lo tanto se mantendrá la presión de selección.

Para la validación de las observaciones descritas, es de anotar que la P2 se conformó con individuos seleccionados por su alta resistencia a la roya (GF A), e incluyó los agrónomicamente más sobresalientes de las familias F3 evaluadas en la P1. La prueba de suma de rangos de Wilcoxon, usando las evaluaciones realizadas entre 1995 y 2017, con el objetivo de determinar el comportamiento de genotipos derivados de familias F3 comunes para ambas poblaciones, mostró diferencias estadísticas significativas entre ellas para el 55% de las evaluaciones (Tabla 2).

Tabla 2. Valores medios obtenidos de acuerdo a prueba de suma de rangos de Wilcoxon, por los genotipos pertenecientes a siete familias F3 presentes en la población 1 y la población 2, y factores climáticos predominantes para los períodos de evaluación.

Año	Semestre	Puntaje Medio		Factor Climático Área de Estudio	
		Población 1	Población 2	Período	Evento
1995	1	78,65	73,11	Julio-94/Junio-95	El Niño – Débil
	2*	67,61	90,50	Julio-95/Junio-96	Neutro
1996	1*	69,98	86,77	Julio-96/Junio-97	Neutro
	2	75,22	78,50	Julio-97/Junio-98	El Niño – Fuerte
1997	1	75,89	77,45	Julio-98/Junio-99	La Niña – Moderada
	2	70,40	86,11	Julio-99/Junio-00	La Niña – Fuerte
1998	1	74,02	80,39	Julio-07/Junio-08	La Niña – Fuerte
	2*	69,97	88,36	Julio-11/Junio-12	La Niña – Débil
1999	1	78,66	73,08	Julio-12/Junio-13	Neutro
	1*	60,80	101,23	Julio-13/Junio-14	Neutro
2000	2*	61,69	99,83	Julio-14/Junio-15	Neutro
	1	69,93	85,45	Julio-15/Junio-16	El Niño – Fuerte
2008	1*	52,93	113,65	Julio-16/Junio-17	Neutro
	1*	52,77	113,89		
2013	2*	56,69	107,71		
	1	75,29	78,40		
2014	2*	67,84	90,23		
	1*	62,33	98,82		
2015	2*	50,50	115,76		
	1	82,31	67,33		
2016	2	73,34	81,47		
	1*	63,13	97,55		

* Indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Wilcoxon al 5%.

Entre 1995/2 y 1996/1, los genotipos de la P2 obtuvieron mayores valores en la escala de evaluación en comparación a sus genotipos relacionados establecidos en la P1, sin presentar en algún caso genotipos considerados como susceptibles a la enfermedad. En este sentido, para la P2 el porcentaje de genotipos con los menores valores en la escala de calificación (0-1) pasó del 90% al 44%, mientras en la P1 esta reducción fue del 84% al 67%, hecho que marcó las diferencias observadas.

Como ha sido mencionado, períodos de alta precipitación condicionan un entorno favorable para el desarrollo de enfermedades (Cristancho *et al.*, 2012; Rozo *et al.*, 2012). El fenómeno de La Niña observado en los años 1999/2000, 2007/2008 y 2010/2011, con aumento en la precipitación de 76%, 33% y 41%, respectivamente, en la zona de estudio (Jaramillo, 2018), y la presencia de inóculo compatible influyeron en el incremento de la enfermedad en los genotipos evaluados para

ambas poblaciones. Anterior al primer período de La Niña (1999/2000) los genotipos en las poblaciones presentaban valores bajos de la enfermedad, siendo estadísticamente similares entre ellas. No obstante, el aumento de la precipitación para el segundo semestre de 1998 ocasionó posiblemente que la enfermedad aumentara de manera significativa para la P2, difiriendo de lo observado en la P1, donde solo se incrementó para el siguiente semestre (1999/1). No obstante, a pesar de denotarse este incremento en los valores de la escala para la P1 y la P2, marcando un comportamiento estadísticamente similar, este estuvo más relacionado a frecuencia de pústulas observadas en el tercio inferior del árbol, que a la susceptibilidad de los genotipos. No obstante, ante condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad en los meses posteriores, los valores observados de incidencia en la P1 se redujeron, mientras que en la P2 ocurrió el caso opuesto, donde el 37% de los genotipos se catalogaron de moderada susceptibilidad.

Para 2008, las condiciones climáticas predominantes favorecieron el aumento en los niveles de la enfermedad a nivel nacional, tanto en variedades susceptibles (Rozo *et al.*, 2012) como en los genotipos evaluados. Para este período, a pesar de que en la P1 el 49% de los genotipos eran considerados resistentes, en comparación a un 23% de la P2, la prueba de rangos no indicó diferencias significativas entre poblaciones. Este comportamiento indica que, ante unas condiciones altamente favorables para el desarrollo de la enfermedad, la presencia de una alta cantidad de inóculo en el tercio inferior del árbol y una edad fisiológica favorable para su retención, el efecto de la mezcla de genotipos puede ser diluida (Burdón *et al.*, 2014). Las evaluaciones registradas entre 2009 y 2011 no permitieron comparar el comportamiento de la enfermedad entre poblaciones, no obstante, para 2012/1 (La Niña débil) y períodos posteriores en la

P2 los valores de susceptibilidad observados (83%) difieren de la P1 (8%). Por lo tanto, dada la reducción posterior en los valores de la enfermedad, el principio de diversidad que rige la P1, donde el área ocupada por cada genotipo es menor en comparación a la P2, muestra el efecto sobre la enfermedad propio de estos sistemas (Browning y Frey, 1969; Wolfe, 1985; Mundt 2002).

En este punto es importante considerar que durante este período (2008 – 2012), hubo un cambio significativo en la estructura de la caficultura debido a la adopción de variedades con resistencia a la enfermedad. De acuerdo con Rozo *et al.* (2012) para el año 2008 las variedades resistentes representaban solo el 25% del área total, pero el fomento de su adopción por programas institucionales y gubernamentales permitieron un crecimiento exponencial, de manera que en la actualidad representa el 80% del área cafetera (FNC, 2018; Rueda, 2018). Este hecho aumenta la presión de selección hacia variantes o razas compatibles con los genes de resistencia derivados del Híbrido de Timor, recurso utilizado para su obtención. De acuerdo con Crisancho, Escobar y Ocampo (2007) y Rozo *et al.* (2007), la presencia de lotes con variedades susceptibles cercanos a lotes con variedades resistentes puede diluir la presión de selección, efecto que puede reducirse cuando el área en las primeras disminuye significativamente. Teniendo en cuenta este hecho, es importante considerar que las familias analizadas como indicadoras del efecto del arreglo espacial sobre el incremento de la roya del cafeto hicieron parte de la variedad Colombia, de la cual el área cultivada no superó el 27% (Rueda, 2018), la cual difiere de la Variedad Castillo[®], utilizada desde su liberación a partir de 2005 (Alvarado, Posada y Cortina, 2005).

La utilización de variedades conformadas por la mezcla de genotipos en la caficultura

colombiana ha sido sin lugar a dudas la mejor estrategia para proporcionar una resistencia duradera para el manejo de la roya del café. De acuerdo a los parámetros establecidos por Johnson (1984), la eficacia de la resistencia solo puede ser confirmada cuando es usada por un largo período de tiempo, en una extensión considerable y en un ambiente favorable para el desarrollo de la enfermedad. Bajo estos, las variedades liberadas en Colombia desde 1983 son evidencia de este hecho (Castillo y Moreno, 1988; Alvarado *et al.*, 2005; Moreno, 2002). No obstante, ante condiciones altamente favorables para el desarrollo de la enfermedad, este estudio mostró que puede alcanzar valores de susceptibilidad similares a los observados cuando los genotipos son usados de forma individual.

En la actualidad, las evaluaciones de incidencia en los campos comerciales confirman el efecto de la estrategia de diversidad sobre el progreso de la enfermedad, los cuales en promedio no han superado el 4,0% (Flórez *et al.*, 2018). Este comportamiento podría ser esperado, debido a que se han indicado diferencias significativas entre los niveles que alcanza la enfermedad en condiciones experimentales versus comerciales, siendo por lo general menores en estas últimas (Mundt, 2001). Este aspecto podría ser verificado utilizando la P1, estandarizando los métodos de evaluación para realizar las comparaciones respectivas, con la sincronización en lo posible en la edad, fenología y manejo del cultivo.

Proporcionar una resistencia duradera frente a enfermedades es uno de los principales retos en el mejoramiento genético, y toma particular relevancia en especies de ciclo largo como el café. En la caficultura colombiana, el aumento significativo del área sembrada en variedades resistentes, que alcanza el 80% (FNC, 2018), lo enfrenta a una situación sin

precedentes, debido a la presión de selección ejercida sobre el patógeno. Ante este hecho toma particular relevancia la incorporación de genotipos con nuevos genes de resistencia para el manejo de la enfermedad, como un medio para enfrentar un patógeno complejo como la roya del café. Adicionalmente, es esencial para el aseguramiento de la resistencia, que las variedades sean acompañadas de un manejo holístico del cultivo, que disminuyan la probabilidad del desarrollo de fuertes epidemias.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa agradecimientos a todas las personas que durante este tiempo realizaron el registro y almacenamiento de la información, los cuales hicieron posible este trabajo. Adicionalmente a Rubén Darío Medina por su valiosa colaboración en el análisis de la información y a Carlos Ariel Ángel Calle por las valiosas asesorías brindadas.

LITERATURA CITADA

- Akanda, I. & Mundt, C. C. (1996). Effects of two-component wheat cultivar mixtures on stripe rust severity. *Phytopathology*, 86(4), 347-353.
- Alvarado, A. G., & Moreno, L. G. (2005). Cambio de la virulencia de *Hemileia vastatrix* en progenies de Caturra X Híbrido de Timor. *Revista Cenicafe*, 56(2), 110-126.
- Alvarado, A.G., Posada H.E. & Cortina, H.A. (2005). Castillo: Nueva variedad de café con resistencia a la roya. *Avances Técnicos Cenicafe*, 337, 1-8. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/401>
- Alvarado, A. G., & Cortina, H. A. (1997). Comportamiento agronómico de progenies de híbridos triploides de *C. arabica* var. Caturra x (Caturra x *C. canephora*). *Revista Cenicafe*, 48(2), 73-91.
- Brophy, L. S., & Mundt, C. C. (1991). Influence of plant spatial patterns on disease dynamics, plant competition and grain yield in genetically diverse wheat populations. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 35, 1-12.

- Browning, J. A. & Frey, K. J. (1969). Multiline cultivars as a means of disease control. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 7, 355-382.
- Burdon, J. J., Barret, L. G., Rebetzke, G. & Thrall, P. H. (2014). Guiding deployment of resistance in cereals using evolutionary principles. *Evolutionary Applications*, 7, 609-624.
- Castillo, J. & Leguizamón, C. J. (1992). Virulencia de *Hemileia vastatrix* determinada por medio de plantas diferenciales de café en Colombia. *Revista Cenicafé*, 43(4), 114-124.
- Castillo, J., & Moreno, L. G. (1988). *La variedad Colombia: Selección de un cultivar compuesto resistente a la roya del café*. Manizales: Cenicafé.
- Cortina, H. A., Moncada, M. P. & Herrera, J.C. (2012). VARIEDAD CASTILLO® Preguntas frecuentes. *Avances Técnicos Cenicafé*, 426, 1-12 Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/410>
- Cristancho, M. A., Rozo, Y., Escobar, C., Rivillas, C. A. & Gaitán, A. L. (2012). Razas de roya: epidemias de 2008 a 2011. *Avances Técnicos Cenicafé*, 425, 1-8. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/353>
- Cristancho, M. A., Escobar, C., & Ocampo, J. D. (2007). Evolución de razas de *Hemileia vastatrix* en Colombia. *Revista Cenicafé*, 58(4), 340-359.
- Didelot, F., Brun, L. & Parisi, L. (2007). Effects of cultivar mixtures on scab control in apple orchards. *Plant Pathology*, 56, 1014-1022.
- Eskes, A. B. (1989). Resistance. En: Kushallapa, A. & Eskes, A. B. (Eds.), *Coffee rust: epidemiology, resistance, and management*. (pp.171-291). Boca Ratón, Florida: CRC Press.
- Eskes, A. B., & Toma-Braghini, M. (1981). Métodos de evaluación de la resistencia contra la roya del caféto (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.). *Boletín Fitosanitario FAO, Italia* 29(3-4), 56 – 66.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia–FNC. (2018). Sistema de información cafetera –SICA. Santafé de Bogotá, Colombia: Federacafé.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia–FNC. (1997). Sistema de Información Cafetera. Encuesta Nacional Cafetera. Informe Final. Santafé de Bogotá, Colombia: Federacafé.
- Flórez., C. P., Arias, J. C., Maldonado, C. E., Cortina, H. A., Moncada, M. P., Quiroga, J., Molina, D. M., García, J. C. & Duque, H. (2018). Variedades Castillo® Zonales resistencia a la roya con mayor productividad. *Avances Técnicos Cenicafé*, 489, 1-8.
- Garret, K. A. & Mundt, C. C. (1999). Epidemiology in mixed host populations. *Phytopathology*, 8(11), 984-990.
- Gil, L. F. (2003). Roya anaranjada *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. En: L. F. Gil, B. L. Castro., & G. Cadena. (Eds.), *Enfermedades del caféto en Colombia*. (pp. 149 – 163). Manizales, Colombia: Cenicafé.
- Gil, L. F., & Ocampo, J. D. (1998). Identificación de la raza XXII (V5-6) de *Hemileia vastatrix* en Colombia. *Revista Cenicafé*, 49(4), 340-344.
- Jaramillo, A. (2018). *El clima de la caficultura en Colombia*. Manizales, Colombia: Cenicafé
- Johnson, R. (1984). A critical analysis of durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol*, 22, 309-330.
- Koizumi, S. (2001). Rice blast control with multilines in Japan. En: Mew, T. W., Borromeo, E. & Hardy, B. (Eds.), *Exploiting biodiversity for sustainable pest management: Proceedings of the Impact Symposium on Exploiting Biodiversity for Sustainable Pest Management 21-23 August 2000, Kunming, China*. (pp. 143 – 157). Los Baños, Philippines: International Rice Research Institute.
- Leguizamón, J., Baeza, C. A., Fernández, O., Moreno, L. G., Castillo, J., & Orozco, F. J. (1984). Identificación de la raza II de *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. en Colombia. *Revista Cenicafé*, 35(1), 26-28.
- Moreno, L. G. (2002). Nueva variedad de café de porte alto resistente a la roya del caféto. *Revista Cenicafé*, 53(2), 132-143.
- Moreno, L. G., & Alvarado, G. (2000). *La variedad Colombia: veinte años de adopción y comportamiento frente a nuevas razas de la roya del caféto*. Manizales, Colombia: Cenicafé.
- Mundt, C. C. (2018). Pyramiding for resistance durability: theory and practice. *Phytopathology*, 108(7), 792- 802.
- Mundt, C. C. (2002). Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol*, 40, 381-410.

- Mundt, C. C. (2001). Varietal diversification and disease management. En: Mew, T. W., Borromeo, E. & Hardy, B. (Eds.), *Exploiting biodiversity for sustainable pest management. Proceedings of the Impact Symposium on Exploiting Biodiversity for Sustainable Pest Management, 21-23 August 2000, Kunming, China.* (pp.135-142). Los Baños, Philippines: International Rice Research Institute.
- Mundt, C. C. & Leonard, K. J. (1986). Analisis of factors affecting disease increase and spread in mixtures of immune and susceptible plants in computer – simulated epidemics. *Phytopathology*, 76(8), 832-840.
- Mundt, C. C. & Leonard, K. J. (1985). Effect of host genotype unit area on epidemic development of crown rust following focal and general inoculations of mixtures of immune and susceptible oat plants. *Phytopathology*, 75(10), 1141-1145.
- Ngugi, H. K., King, S. B., Holt, J. & Julian, A. M. (2001). Simultaneous temporal progress of sorghum anthracnose and leaf blight in crop mixtures with disparate patterns. *Phytopathology*, 91(8), 720-729.
- Rodrigues, C. J., Bettencourt, A. J. & Rijo, L. (1975). Races of the pathogen and resistance to coffee rust. *Annu. Rev. Phytopathol*, 13, 49-70.
- Rozo, Y., Escobar, C., Gaitán, A. & Cristancho, M. (2012). Agresiveness and genetic diversity of *Hemileia vastatrix* during an epidemic in Colombia. *Journal of Phytopathology*, 160, 732-740.
- Rueda G., J. L. (2018). Cambio tecnológico y mejoras en el bienestar de los caficultores en Colombia: el caso de las variedades resistentes a roya. *Ensayos sobre economía cafetera*, 32(2017-2018), 121-152.
- Srinivasan, K. H. & Narasimhaswamy, R. L. (1975). A review of coffee breeding work done at the government coffee experiment station, Balehonnur. *Indian Coffee*, 39(10 – 11), 311-321.
- Wolfe, M. S. (1985). The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol*, 23, 251-273.

MOLECULAR EVIDENCE FOR *Wolbachia* INFECTION IN *Prorops nasuta* (HYMENOPTERA: BETHYLIDAE), A PARASITOID WASP OF THE COFFEE BERRY BORER

Lucio Navarro*, Carlos Maldonado**, Pablo Benavides*

NAVARRO L.; MALDONADO C.; BENAVIDES P. Molecular evidence for *Wolbachia* infection in *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethylidae), a parasitoid wasp of the coffee berry borer. *Revista Cenicafé* 70(2):45-54. 2019

Wolbachia are common endosymbiotic bacteria of insects known for manipulating host reproduction in different ways. In this study we report *Wolbachia* infection in the parasitoid wasp *Prorops nasuta*, an insect introduced into the Americas for the biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. PCR screening for *Wolbachia* infection based on the endosymbiont marker genes *ftsZ* and *wsp* resulted positive in wasps samples collected in coffee fields from Colombia and Brazil and obtained from a laboratory colony in Mexico. DNA sequence analyses of the *wsp* gene identified two different sequence clones that suggest multiple *Wolbachia* isolates infecting these wasp populations. Additionally, phylogenetic analysis of the *ftsZ* and *wsp* sequences located these *Wolbachia* isolates into supergroup A. Whether *Wolbachia* plays a role affecting reproduction in *P. nasuta* remains unclear. However, different scenarios of how *Wolbachia*-infection outcomes may affect insect-pest control using parasitoids are discussed.

Keywords: Endosymbiont, biological control, *Hypothenemus hampei*.

EVIDENCIA MOLECULAR DE INFECCIÓN POR *Wolbachia* EN *Prorops nasuta* (HYMENOPTERA: BETHYLIDAE), UNA AVISPA PARASITOIDE DE LA BROCA DEL CAFÉ

Wolbachia es una bacteria endosimbiótica común en insectos, conocida por manipular la reproducción del hospedante de diferentes maneras. En este estudio se reporta la infección por *Wolbachia* en la avispa parasitoide *Prorops nasuta*, un insecto introducido en las Américas para el control biológico de la broca del café *Hypothenemus hampei*. La detección por PCR para la infección por *Wolbachia* basada en los genes marcadores *ftsZ* y *wsp* resultó positiva en muestras de avispas recolectadas en cafetales de Colombia y Brasil y obtenidas de una colonia de laboratorio en México. Los análisis de secuencia de ADN del gen *wsp* identificaron dos clones de secuencia diferentes que sugieren múltiples aislamientos de *Wolbachia* que infectan estas poblaciones de la avispa. Además, el análisis filogenético de las secuencias *ftsZ* y *wsp* localiza estos aislamientos de *Wolbachia* en el supergrupo A. Aún no está claro el papel que desempeña *Wolbachia* en la reproducción en *P. nasuta*. Sin embargo, se discuten diferentes escenarios de cómo la infección por *Wolbachia* puede afectar estrategias de biocontrol usando parasitoides.

Palabras clave: Endosimbionte, control biológico, *Hypothenemus hampei*.

*Department of Entomology, Colombia National Coffee Research Center–Cenicafé, Manizales, Colombia.

**Department of Plant Breeding, Cenicafé, Manizales, Colombia.

Wolbachia (Hertig) are maternally inherited bacterial endosymbionts of arthropods and nematodes that live predominantly inside the reproductive tissues of their host (Bandi, Trees, & Brattig, 2001; Werren, 1997). They are best known for manipulating host reproduction in ways that increase their own infection frequency in the coming host generations. Those reproductive manipulations include cytoplasmic incompatibility (CI) (fitness reduction caused when uninfected females mate with infected males or each sex infected by different strains), parthenogenesis (infected females produce only female offspring), male-killing (death of infected male embryos) or feminization (genetically programmed males are turned into females) (Werren *et al.* 2008). Recent estimations propose that *Wolbachia* infects half of the currently known insect species (about 52%) (Weinert *et al.*, 2015). Phylogenetic analyses of the genus *Wolbachia* have shown the existence of 17 major supergroups (A to Q) (Bandi, Anderson, Genchi, & Blaxter, 1998; Casiraghi, 2005; Gerth, Gansauge, Weigert, & Bleidorn, 2014; Glowska, Dragun-Damian, Dabert, & Gerth, 2015; Lo, Casiraghi, Salati, Bazzocchi, & Bandi, 2002; Ma *et al.*, 2017; J. H. Werren *et al.*, 1995). Most of the proposed *Wolbachia* supergroups infect arthropods, except supergroups C, D, J and L which have been found exclusively in nematodes (Haegeman *et al.*, 2009; Koutsovoulos, Makepeace, Tanya, & Blaxter, 2014). However, among the *Wolbachia* spp. infecting arthropods, the majority belongs to supergroups A and B (Correa & Ballard, 2016; Glowska *et al.*, 2015).

The wasp *Prorops nasuta* (Waterston) (Hymenoptera: Bethyilidae) is an idiobiont solitary parasitoid that was introduced into the Americas as a biological control agent for the Coffee Berry Borer (CBB), *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae). *Prorops nasuta* was initially introduced from Uganda into Brazil in 1929 and reintroduced

in several other coffee-growing countries in South and Central America during the 80's and 90's decades (Ferreira & Bueno, 1995; Heinrich, 1965; Infante, Mumford, & Baker, 2005; Infante *et al.*, 2001). In Colombia, there were two wasp release events in 1991 and 1996 with insects imported from Ecuador (originally introduced from Kenya) and insects from Brazil, respectively. After these release events, *P. nasuta* was found in CBB-infested coffee crops in Colombia (Maldonado & Benavides, 2008; Rivera *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2011). In Mexico, *P. nasuta* was not established in the field after its introduction from Brazil in 1992 (Infante *et al.*, 2001).

Despite the importance of *P. nasuta* within biological control strategies for the CBB, surprisingly no study has focused on *Wolbachia* infection in this wasp. In parasitic wasps, *Wolbachia* infection has been found to cause reproductive modifications such as CI and parthenogenesis (Cook & Butcher 1999), impose physiological cost to the hosts (Fleury, Vavre, Ris, Fouillet, & Boulétreau, 2000), play an important role in development of host ovaries (Dedeine, Boulétreau, & Vavre, 2005) and influence behavior and fitness on infected hosts (Dedeine *et al.*, 2001; Kishani Farahani *et al.*, 2015, 2017; Liu *et al.*, 2018; van Nouhuys, Kohonen, & Duplouy, 2016). Nonetheless, in most of the cases there is not clear understanding of the effects of *Wolbachia* infection in the host biology. The understanding of endosymbiont-host symbiosis may be useful for improving strategies of insect-pest control through insect parasitoids. For example, *Wolbachia*-infections causing female-based sex distortion could be of interest since mostly or only females are produced and released in the field for pest control (Sivinski, 2013). Similarly, *Wolbachia*-infections causing CI must be taken into account to avoid mixing of incompatible parasitoid populations in mass-rearing or field-releases (Floate, Kyei-Poku, & Coghlin, 2006).

Here, we report the presence of *Wolbachia* infection in *P. nasuta* populations from Colombia and Brazil as well as wasps from a laboratory colony in Mexico. The molecular presented evidence indicates that all detected *P. nasuta*-infecting *Wolbachia* belongs to the supergroup A. Our findings also suggest that at least two different *Wolbachia* strains may be infecting *P. nasuta* in these populations.

MATERIALS AND METHODS

Insects and DNA isolation: *Prorops nasuta* samples from Colombia and Brazil were obtained from naturally CBB-infested coffee beans collected in coffee fields (Table 1). Wasps from Mexico were obtained from parasitized CBB reared under laboratory conditions for over 16 years. A *Drosophila melanogaster* (Meigen) wild strain naturally infected with *Wolbachia* was used as positive control for

Wolbachia PCR detection. Pools of individuals of *P. nasuta* from each location were used for DNA isolation using the DNeasy Tissue Kit (Quiagen) according to manufacture protocol for animal tissue samples. Genomic DNA isolated was stored at -20°C.

PCR screening and DNA sequencing: The presence of *Wolbachia* in insect samples was determined by PCR amplification using the *Wolbachia*-specific *ftsZ* primers (*ftsZF*: GTATGCCGATTGCAGAGCTTG and *ftsZR*: GCCATGAGTATTCCTTGGCT) (Werren *et al.*, 1995) and *wsp* primers (*wsp81F*: TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC and *wsp691R*: AAAAATTAAACGCTACTCCA) (Zhou *et al.*, 1998). PCR control reactions to test the quality of the DNA were carried out with 28s rDNA universal arthropod primers (28sF3633: TACCGTGAGGGAAAGTTGAAA and

Table 1. Samples of *Prorops nasuta* included in the *Wolbachia*-screening analysis.

Sample	Location	Population	Individuals*
BR02	Viçosa, Minas Gerais, Brazil	Wild	5
BR03	Viçosa, Minas Gerais, Brazil	Wild	5
MX03	ECOSUR, Chiapas, Mexico	Laboratory	5
MX05	ECOSUR, Chiapas, Mexico	Laboratory	5
CE03	Delicias, Jagua de Ibirico, Cesar, Colombia	Wild	1
NS24	Chinacota, Norte de Santander, Colombia	Wild	5
M03	El Trébol, Chinchiná, Caldas, Colombia	Wild	21
P03	Santa Ana, Palestina, Caldas, Colombia	Wild	2
Q34	Morelia Alta, Quimbaya, Quindío, Colombia	Wild	18
R10	Guadualito, Pereira, Risaralda, Colombia	Wild	7
A110	Yananchá, Ancyuyá, Nariño, Colombia	Wild	8
S56	Bellavista, Sandoná, Nariño, Colombia	Wild	1
CN41	El Salado, Consacá, Nariño, Colombia	Wild	9

*Number of individuals included in the pooled DNA extraction

28sR4076: AGACTCCTTGGTCCGTGTTT).

The samples were also screened for *Wolbachia* A and B supergroups using the specific A-*wsp* (*wsp*136AF: TGAAATTTTACCTCTTTTC and *wsp*691R) and B-*wsp* (*wsp*81F and *wsp*522BR: ACCAGCTTTTGCTTGATA) primers (Zhou *et al.*, 1998). All PCR amplifications were performed as described by Zhou *et al.* (1998). PCR products were visualized on agarose gels under UV light. Genomic DNA samples that failed to produce a DNA band with the 28s rDNA universal primers was discarded from the analysis. For DNA sequence confirmations, PCR products of the *ftsZ* gene from Colombia (sample R10) and *wsp* gene from Brazil (BR02), Mexico (MX03) and Colombia (R10) were cloned into the pGEM-T vector (Promega) and transformed in the One Shot® TOP10 chemically competent *E. coli* (Invitrogen). Recombinant plasmids were purified with the QIAprep Kit (Qiagen) and used for ABI automated sequencing with T7 and SP6 primers. Cloning of PCR products for sequencing was used since it allows the detection of multiple *Wolbachia* strains within a pooled DNA sample. DNA sequences were edited and assembled with CodonCode Aligner v1.6.3 software (CodonCode Corporation). Similarities with *ftsZ* and *wsp* genes reported previously were searched by BLASTn against NCBI databases.

Phylogenetic analysis: A 622 bp DNA fragment of *ftsZ* (positions 1 to 622) and a 561 bp DNA fragment of *wsp* (positions 25 to 585) sequences obtained in this study were aligned respectively with other *ftsZ* and *wsp* DNA sequences deposited previously at NCBI GenBank. Multiple sequence alignments were performed with ClustalW algorithm. Phylogenetic trees were inferred using maximum-likelihood (evolutionary model: GTR) with SeaView (Gouy *et al.*, 2010). Branch supports were estimated by the approximate likelihood ratio test (aLRT).

RESULTS

***Wolbachia* detection:** Thirteen samples of the parasitoid wasp *P. nasuta* obtained from Colombia, Brazil and Mexico and one sample of a *Wolbachia*-infected *D. melanogaster* were included for *Wolbachia* PCR screening using *Wolbachia*-specific *ftsZ* and *wsp* primers. All DNA samples of *P. nasuta* obtained from Colombia, Brazil and Mexico yielded positive for *Wolbachia* infection by PCR screening using the *ftsZ* (~770 bp) and *wsp* (~600 bp) genes (Figure 1A). The positive *D. melanogaster* control yielded also similar DNA bands. The quality of the DNA samples were confirmed by PCR amplification of the insect 28s rDNA gene (data not shown).

***Wolbachia* sequence analysis:** DNA sequencing of the *P. nasuta Wolbachia* (wNas) *ftsZ* DNA fragment amplified from sample R10 (Colombia) resulted in a 773 bp sequence (GenBank accession: MF150853). A BLAST similarity search with wNas *ftsZ* sequence indicated a 99.72% nucleotide identity with the *ftsZ* gene encoded by a wAu strain (GenBank accession: LK055284) from *D. simulans* (Sutton, Harris, Parkhill, & Sinkins, 2014) reported at NCBI nr database. DNA sequencing for wNas *wsp* clones from Colombia (R10), Brazil (BR02) and Mexico (MX03) (GenBank accessions: MF150854 to MF150858) resulted in two *wsp* sequence clones (605 bp each); named here as *wsp*1 and *wsp*2. The *wsp*1 sequence clone was found in Colombia (*wsp*1R10, MF150854), Mexico (*wsp*1MX03, MF150855) and Brazil (*wsp*1BR02, MF150856). The latter only differ in a single base at position 214 (Figure 2). The *wsp*2 sequence clone was found in Mexico (*wsp*2MX03, MF150857) and Brazil (*wsp*2BR02, MF150858), and differs from *wsp*1 in 29 positions (Figure 2) The wNas *wsp*1 sequence clone showed 99% nucleotide identity with the *wsp* gene encoded by a wAnd strain (GenBank accession:

AB052667) from *Andricus mukaigawae* (Mukaigawa) (Hymenoptera; Cynipidae) (Abe & Miura, 2002). The wNas *wsp2* sequence clone showed 100% nucleotide identity

with the *wsp* gene encoded by a wPcurA1 strain (GenBank accession: AY878108) from *Pseudacteon curvatus* (Borgmeier) (Diptera: Phoridae) (Dedeine *et al.*, 2005).

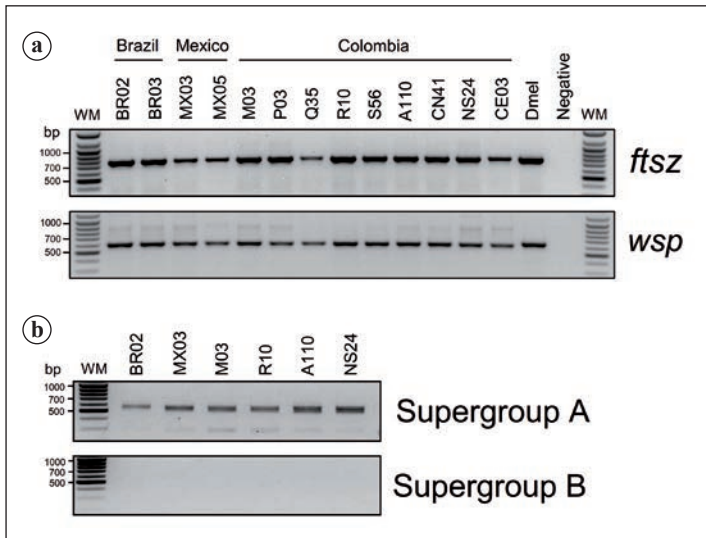


Figure 1. PCR screening for *Wolbachia* detection. (A) Molecular detection using PCR primers specific for *Wolbachia ftsZ* and *wsp* gene fragments in 13 *P. nasuta* DNA samples from Brazil, Mexico and Colombia. (B) Molecular screening of *Wolbachia* supergroups A and B on representative *P. nasuta* DNA samples from Brazil, Mexico and Colombia. Detailed information for each sample name are presented in Table 1.

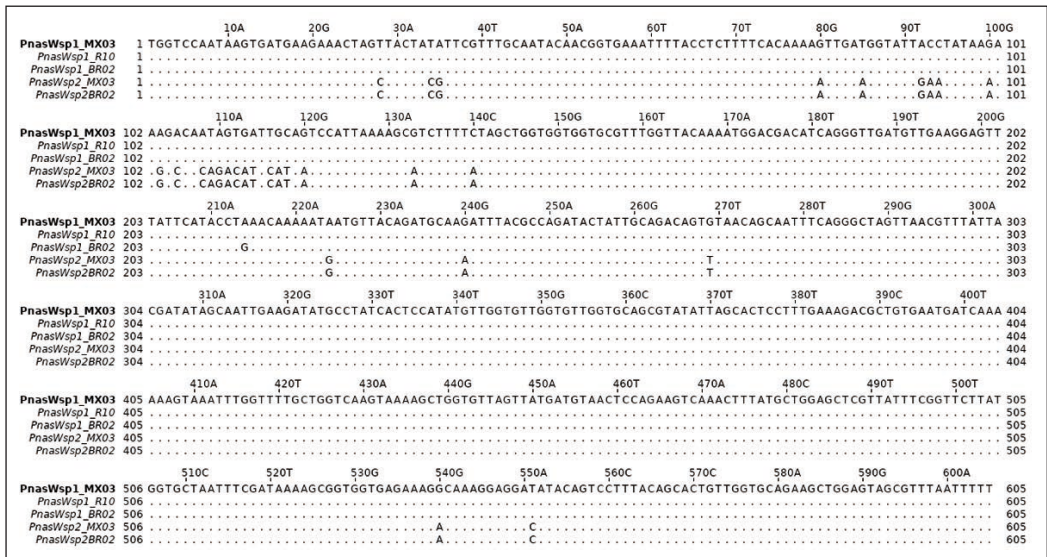


Figure 2. Clustal DNA sequence alignment of *wsp* sequence clones detected in *P. nasuta*. Using the *wsp* sequence clone from sample MX03 as reference, the polymorphic nucleotide positions are shown among the different *wsp* clones sequenced in this study. The conserved nucleotide positions are represented by dots (.).

Wolbachia classification: PCR analysis to identify the *Wolbachia* groups showed that all infections in *P. nasuta* belongs to the supergroup A, as it was detected by the amplification of a DNA fragment of ~550 pb using the A-*wsp* specific primers in samples from Colombia, Brazil and Mexico (Figure 1B). The B-*wsp* specific primer combination failed to amplify the expected DNA band. The phylogenetic analysis based on *ftsZ* and *wsp* sequences also placed the wNas *Wolbachia* isolates into the supergroup A clade (Figure 3A). Additionally, each wNas *wsp* sequence

clone was clustered in distinct subclades, closely related to *Wolbachia* strains wAnd and wRi, respectively (Figure 3B).

DISCUSSION

From the 17 *Wolbachia* supergroups (supergroup A to Q) designated so far (Werren *et al.*, 1995; Zhou *et al.*, 1998), supergroups A and B are mostly present in insects (Correa & Ballard, 2016; Glowska *et al.*, 2015). In this study, the PCR-screening and phylogenetic analyses based on *wsp* gene fragments supported the

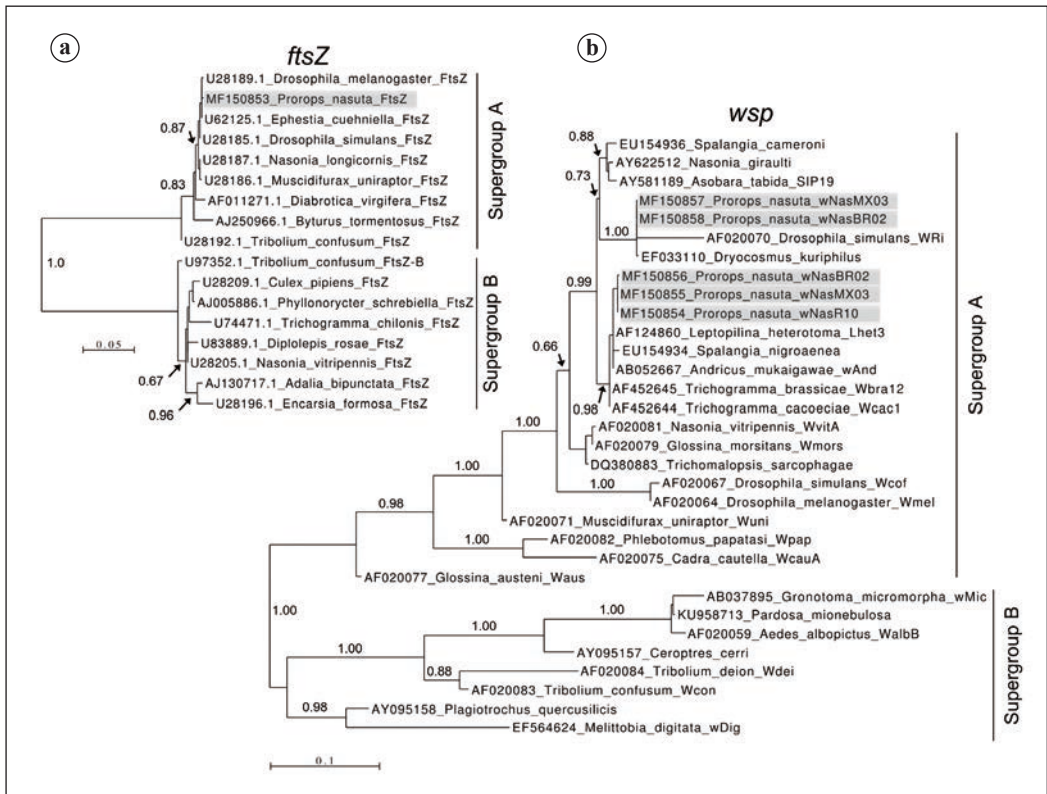


Figure 3. Phylogenetic gene trees for *Prorops nasuta*-infecting *Wolbachia* isolates. Maximum-likelihood trees based on *ftsZ* (A) and *wsp* (B) sequences, including representative of several *Wolbachia* strains within supergroups A and B. Branch supports were estimated using approximate likelihood-ratio test (aLRT). The *Wolbachia* isolates sequenced in this study are highlighted in grey. GeneBank accession numbers of *Wolbachia* *ftsZ* and *wsp* sequences precede the host insect species names.

position of the *P. nasuta*-infecting *Wolbachia* isolates into the supergroup A. According to Zhou *et al.* (1998), *Wolbachia* strains in supergroups A and B can be assigned to 12 groups (Mel, AlbA, Mors, Uni, Riv, Haw, Pap, Aus, Con, Dei, Oru and Pip), and based on a *wsp* gene sequence fragment, members of the same *Wolbachia* group must share at least 97.5% sequence similarity. The wNas *wsp1* and *wsp2* sequence clones share 95.0% sequence similarity and are clustered in distant phylogenetic positions inside the supergroup A (Figure 3. B). These observations may suggest the possibility that at least two different *Wolbachia* strains could be infecting the *P. nasuta* populations. Further molecular genotyping using the *Wolbachia* multilocus sequence typing (MLST) (Baldo *et al.*, 2006) will be necessary for better characterization of the *P. nasuta*-infecting *Wolbachia* isolates. Since DNA extraction was performed on pools of wasps in this study, we could not obtain the frequency of *Wolbachia* infection per location sampled here. Future estimations of infection frequencies will be useful to establish the distribution and prevalence of *Wolbachia* infection in wasp field-populations and may help to better understand its role in the *P. nasuta* biology.

Horizontal transmission of *Wolbachia* across phylogenetically distant species has been proposed as one possible natural mechanisms for the widespread infection in insects (Heath *et al.*, 1999). This idea is supported by the discovery of closely related *Wolbachia* isolates in a number of host-parasitoid associations (Vavre *et al.*, 1999; Noda *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2013). For example, host-parasitoid horizontal transmission was strongly suggested when the majority of *Wolbachia* strains isolated from two parasitoids species (the braconid wasp *Macrocentrus cingulum* and the tachinid fly *Lydella grisescens*) were genetically closely related ($\geq 99\%$ *wsp* sequence similarity) to

those detected in their host (the Lepidoptera corn borer *Ostrinia furnacalis*) (Li *et al.*, 2013). *Wolbachia* infection has already been reported in *H. hampei* in samples from Africa, Asia and the Americas (Vega, Benavides, Stuart, & O'Neill, 2002; Mariño, Verle Rodrigues, & Bayman, 2017). The wNas *wsp* clones obtained in this study share 93-94% similarity with the *wsp* sequences obtained from the CBB-infecting *Wolbachia* strains within the supergroup A (GenBank accessions KX436087 to KX436090) (Mariño, Verle Rodrigues, & Bayman, 2017) and 80-81% similarity with the CBB-infecting *Wolbachia* strains within the supergroup B (GenBank accession AF389084) (Vega, Benavides, Stuart, & O'Neill, 2002). Whether or not *P. nasuta* was able to obtain the *Wolbachia* infection from their host through horizontal transmission is an open question that could be answered using larger numbers of *P. nasuta* samples and a most robust DNA sequence analysis.

Since *Wolbachia* can manipulate host reproduction causing cytoplasmic incompatibility and other sex-ratio distorting effects in Hymenoptera (Cook & Butcher 1999), the evidence of *Wolbachia*-infection in *P. nasuta* presented here bring new questions about the possible reproductive effects on natural *P. nasuta* wasp populations. Whether *Wolbachia* plays a role affecting reproduction or fitness in *P. nasuta* remains unclear. The possibility that infection with different *Wolbachia* strains may cause CI among *P. nasuta* populations could be important when designing parasitoid mass-rearing or mass-release strategies. CI would have negative impacts since mixing of these populations may retard population growth rate in mass-rearing or if looking for augmentation of local wasp populations. This plausible scenario should arouse greater scientific interest to understand the effect of *Wolbachia*-infection on *P. nasuta* biology.

CONCLUSIONS

This study reports the first molecular evidence of *Wolbachia* infection in the parasitoid wasp *P. nasuta* in laboratory and field populations. All *P. nasuta*-infecting *Wolbachia* isolates detected in this study belongs to supergroup A. Our findings suggest the possibility of multiple *Wolbachia* strains infecting different *P. nasuta* populations. Further investigations will be necessary to understand the outcome of this endosymbiont-wasp interaction and their implications for the use of *P. nasuta* in biocontrol strategies.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Colombian Coffee Growers Federation for financial support of this investigation. We also thank Tito Bacca (Universidad de Nariño, Colombia) and Francisco Infante (El Colegio de la Frontera Sur, Mexico) for providing the wasps from Brazil and Mexico, respectively. To Diana Gil (Universidad de Caldas, Colombia) for providing the *Wolbachia*-infected *D. melanogaster* flies.

BIBLIOGRAPHY

- Abe, Y., & Miura, K. (2002). Doses *Wolbachia* Induce Unisexuality in Oak Gall Wasps? (Hymenoptera: Cynipidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(5), 583-586.
- Baldo, L., Dunning Hotopp, J. C., Jolley, K. A., Bordenstein, S. R., Biber, S. A., Choudhury, R. R., ... Werren, J. H. (2006). Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(11), 7098-7110.
- Bandi, C., Anderson, T. J. C., Genchi, C., & Blaxter, M. L. (1998). Phylogeny of *Wolbachia* in filarial nematodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265, 2407-2413. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0591>
- Bandi, C., Trees, A. J., & Brattig, N. W. (2001). *Wolbachia* in filarial nematodes: evolutionary aspects and implications for the pathogenesis and treatment of filarial diseases. *Veterinary Parasitology*, 98(1-3), 215-238.
- Bourtzis, K., Dobson, S. L., Xi, Z., Rasgon, J. L., Calvitti, M., Moreira, L. A., ... Gilles, J. R. L. (2014). Harnessing mosquito-*Wolbachia* symbiosis for vector and disease control. *Acta Tropica*, 132, S150-S163.
- Casiraghi, M., Bordenstein, S. R., Baldo, L., N, Lo, Beninati, T., Wernegreen, J. J., ... Bandi, C. (2005). Phylogeny of *Wolbachia pipientis* based on gltA, groEL and ftsZ gene sequences: clustering of arthropod and nematode symbionts in the F supergroup, and evidence for further diversity in the *Wolbachia* tree. *Microbiology*, 151, 4015-4022. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28313-0>
- Cook, J. M., & Butcher, R. D. J. (1999). The transmission and effects of *Wolbachia* bacteria in parasitoids. *Researches on Population Ecology*, 41(1), 15-28.
- Correa, C. C., & Ballard, J. W. O. (2016). *Wolbachia* Associations with Insects: Winning or Losing Against a Master Manipulator. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 3, 153.
- Dedeine, F., Ahrens, M., Calcaterra, L., & Shoemaker, D. D. (2005). Social parasitism in fire ants (*Solenopsis* spp.): a potential mechanism for interspecies transfer of *Wolbachia*. *Molecular Ecology*, 14(5), 1543-1548.
- Dedeine, F., Boulétreau, M., & Vavre, F. (2005). *Wolbachia* requirement for oogenesis: occurrence within the genus *Asobara* (Hymenoptera, Braconidae) and evidence for intraspecific variation in *A. tabida*. *Heredity*, 95(5), 394-400.
- Dedeine, F., Vavre, F., Fleury, F., Loppin, B., Hochberg, M. E., & Boulétreau, M. (2001). Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(11), 6247-6252.
- Ferreira, A. J., & Bueno, V. H. P. (1995). Ocorrência da vespa de uganda, *Prorops nasuta* Waterston, 1923 (Hymenoptera: Bethyilidae na Região de Lavras-MG. *Ciência E Prática*, 19(2), 226-227.
- Fleury, F., Vavre, F., Ris, N., Fouillet, P., & Boulétreau, M. (2000). Physiological cost induced by the maternally-transmitted endosymbiont *Wolbachia* in the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina heterotoma*. *Parasitology*, 121 Pt 5, 493-500.
- Floate, K. D., Kyei-Poku, G. K., & Coghlin, P. C. (2006). Overview and relevance of *Wolbachia* bacteria in

- biocontrol research. *Biocontrol Science and Technology*, 16(8), 767–788.
- Gerth, M., Gansauge, M.-T., Weigert, A., & Bleidorn, C. (2014). Phylogenomic analyses uncover origin and spread of the Wolbachia pandemic. *Nature Communications*, 5, 5117.
- Glowska, E., Dragun-Damian, A., Dabert, M., & Gerth, M. (2015). New Wolbachia supergroups detected in quill mites (Acari: Syringophilidae). *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 30, 140–146.
- Gouy, M., Guindon, S., & Gascuel, O. (2010). SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution*, 27(2), 221–224.
- Haegeman, A., Vanholme, B., Jacob, J., Vandekerckhove, T. T. M., Claeys, M., Borgonie, G., & Gheysen, G. (2009). An endosymbiotic bacterium in a plant-parasitic nematode: member of a new Wolbachia supergroup. *International Journal for Parasitology*, 39(9), 1045–1054.
- Hargreaves, H. (1926). Notes on the Coffee berry-Borer (Stephanoderes hampei, Ferr.) in Uganda. *Bulletin of Entomological Research*, 16(04), 347.
- Heinrich, W. O. (1965). Aspectos do combate biológico as pragas do café. *O Biológico*, 31, 57–62.
- Infante, F., Mumford, J., & Baker, P. (2005). Life history studies of Prorops nasuta, a parasitoid of the coffee berry borer. *Biocontrol*, 50(2), 259–270.
- Infante, F., Mumford, J. D., & Mendez, I. (2001). Non-Recovery of Prorops nasuta (Hymenoptera: Bethyridae), an Imported Parasitoid of the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae) in Mexico. *Southwestern Entomologist*, 26(2), 159–163.
- Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Goldansaz, S. H., Farrokhi, S., Ainouche, A., & van Baaren, J. (2015). Does Wolbachia infection affect decision-making in a parasitic wasp? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 155(2), 102–116.
- Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Goldansaz, S. H., Shapiro, M. S., Pierre, J.-S., & van Baaren, J. (2017). Decrease of memory retention in a parasitic wasp: an effect of host manipulation by Wolbachia? *Insect Science*, 24(4), 569–583.
- Koutsovoulos, G., Makepeace, B., Tanya, V. N., & Blaxter, M. (2014). Palaeosymbiosis revealed by genomic fossils of Wolbachia in a stronglyloidean nematode. *PLoS Genetics*, 10(6), e1004397.
- Liu, Q. Q., Zhang, T. S., Li, C. X., Gu, J. W., Hou, J. B., & Dong, H. (2018). Decision-making in a bisexual line and a thelytokous Wolbachia-infected line of Trichogramma dendrolimi Matsumura (Hymenoptera: Trichogrammatidae) regarding behavior toward their hosts. *Pest management science*, 74(7), 1720–1727. <https://doi.org/10.1002/ps.4867>
- Lo, N., Casiraghi, M., Salati, E., Bazzocchi, C., & Bandi, C. (2002). How Many Wolbachia Supergroups Exist? *Molecular Biology and Evolution*, 19(3), 341–346.
- Maldonado, C. E., & Benavides, P. (2008). Evaluación del establecimiento de Cephalonomia stephanoderis y Prorops nasuta controladores de Hypothenemus hampei en Colombia. *Revista Cenicafé*, 58(4), 333–339.
- Mariño, Y. A., Verle Rodrigues, J. C., & Bayman, P. (2017). Wolbachia Affects Reproduction and Population Dynamics of the Coffee Berry Borer (Hypothenemus hampei): Implications for Biological Control. *Insects*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/insects8010008>
- Ma, Y., Chen, W.-J., Li, Z.-H., Zhang, F., Gao, Y., & Luan, Y.-X. (2017). Revisiting the phylogeny of Wolbachia in Collembola. *Ecology and Evolution*, 7(7), 2009–2017.
- Morales P, R., Bacca, T., & Soto G, A. (2011). Establecimiento de los parasitoides de origen Africano de la broca del café en la zona cafetera del norte del Departamento de Nariño. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 15(2), 81–93.
- Rivera, P. A., Montoya, E. C., & Benavides, P. (2010). Biología del parasitoides Prorops nasuta (Hymenoptera: Bethyridae) en el campo y su tolerancia a insecticidas. *Revista Cenicafé*, 61(2), 99–107.
- Sivinski, J. (2013). Augmentative biological control: research and methods to help make it work. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 8(026). <https://doi.org/10.1079/pavsnnr20138026>
- Sutton, E. R., Harris, S. R., Parkhill, J., & Sinkins, S. P. (2014). Comparative genome analysis of Wolbachia strain wAu. *BMC Genomics*, 15, 928.
- van den Bosch, T. J. M., & Welte, C. U. (2017). Detoxifying symbionts in agriculturally important pest insects. *Microbial Biotechnology*, 10(3), 531–540.
- van Nouhuys, S., Kohonen, M., & Duploux, A. (2016). Wolbachia increases the susceptibility of a parasitoid

- wasp to hyperparasitism. *The Journal of Experimental Biology*, 219(Pt 19), 2984-2990.
- Vega, F. E., Benavides, P., Stuart, J. A., & O'Neill, S. L. (2002). *Wolbachia* Infection in the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(3), 374–378. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0374:witcb\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0374:witcb]2.0.co;2)
- Weinert, L. A., Araujo-Jnr, E. V., Ahmed, M. Z., & Welch, J. J. (2015). The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 282(1807), 20150249.
- Werren, J. H. (1997). Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology*, 42, 587-609.
- Werren, J. H., Baldo, L., & Clark, M. E. (2008). *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews. Microbiology*, 6(10), 741-751.
- Werren, J. H., Zhang, W., & Guo, L. R. (1995). Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 261(1360), 55–63.
- Zhou, W., Rousset, F., & O'Neil, S. (1998). Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 265(1395), 509–515.

PÉRDIDAS POTENCIALES DE SUELO POR EROSIÓN HÍDRICA EN LA REGIÓN CAFETERA DEL DEPARTAMENTO DE RISARALDA

Luz Adriana Lince Salazar*, Wadi Andrey Castaño Castaño*

LINCE S., L.A.; CASTAÑO C., W.A. Pérdidas potenciales de suelo por erosión hídrica en la región cafetera del departamento de Risaralda. *Revista Cenicafé* 70(2):55-66. 2019

La erosión del suelo es la principal causa de degradación de la tierra y conduce a la pérdida de 75 mil millones de toneladas de suelo fértil cada año. Entre los tipos de erosión, la hídrica es la que más afecta la región húmeda tropical, por ser un proceso natural causado por la erosividad de la lluvia, que genera degradación física química y biológica del suelo. Este tipo de erosión se presenta de forma generalizada en la región cafetera colombiana, razón por la cual la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia realizó una investigación en el departamento de Risaralda, región central colombiana, para determinar las pérdidas potenciales de suelo por dicho fenómeno. Para ello, se tomaron muestras de suelo disturbadas, de las unidades cartográficas Chinchiná, Catarina, Doscientos, Balboa y Malabar, se sometieron en el laboratorio a lluvia simulada de 80 mm h⁻¹ en una pendiente de 45° y se cuantificó el suelo desprendido por escorrentía y salpique. Además, se realizaron tres simulaciones teóricas de pérdida de suelo con erosividades de 6.400 a 12.000 MJ mm ha⁻¹. Los valores promedio de pérdida de suelo ante la simulación de eventos estuvieron entre 4,1 y 10,1 t ha⁻¹ y las simulaciones teóricas para los tres escenarios erosivos, indicaron que las pérdidas teóricas de suelo, pueden estar entre 1,8 y 6,3 mm año⁻¹. La investigación permitió identificar que la región cafetera de Risaralda está expuesta a niveles potenciales de pérdida de suelo por erosión hídrica que van de bajos a severos, lo cual varía según el tipo de suelo y la intensidad de la lluvia.

Palabras clave: Erosividad, erosión por salpique, erosión por escorrentía, lluvia simulada.

POTENTIAL SOIL LOSS BY WATER EROSION IN THE COFFEE ZONE OF RISARALDA DEPARTMENT

Soil erosion is the main cause of land degradation and generates a loss of 75 billion tons of fertile soil each year. Among the types of erosion, water erosion affects humid tropical regions the most due to its natural process caused by rainfall erosivity that creates physical, chemical and biological soil degradation. This type of erosion occurs in the coffee growing region of Colombia. That is why the National Federation of Colombian Coffee Growers conducted a study in the Department of Risaralda, central region of Colombia, to determine potential soil loss in this region due to water erosion. Soil samples from the Chinchiná, Catarina, Doscientos, Balboa and Malabar cartographic units were taken and subjected to simulated rain of 80 MJ mm h⁻¹ in a slope of 45° in a laboratory; the detached soil due to runoff and splash was measured. Moreover, three theoretical simulations of soil loss under erosivities of 6,400 to 12,000 MJ mm ha⁻¹ were carried out. The average values of soil loss under simulated rainfall was between 4.10 and 10.09 kg.ha⁻¹ while theoretical simulations for the three erosive scenarios showed that theoretical soil losses may be between 1.8 and 6.3 mm year⁻¹. The results show that the coffee region of Risaralda is exposed to potential soil loss that ranges from low to severe and that varies according to the soil type and rainfall intensity.

Keywords: Erosivity, splash erosion, runoff erosion, simulated rainfall.

*Investigador Científico I e Investigador Asociado (hasta 2018), respectivamente. Disciplina de Suelos, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

La erosión del suelo es la causa principal de degradación de la tierra y conduce a la pérdida de 75 mil millones de toneladas de suelo fértil cada año, con un valor económico de 400 mil millones de dólares al año (FAO, 2015). En Colombia el 40% de la superficie presenta erosión, de la cual el 20% es ligera, 17% moderada, 3% severa y 0,2% muy severa (Otero *et al.*, 2015), y en su mayoría está relacionada con la erosión hídrica, especialmente con procesos laminares.

La erosión hídrica es un proceso natural causado por la lluvia, que genera en el suelo la movilización, transporte y desprendimiento tanto de minerales como de partículas orgánicas, así como de productos químicos y biota (Fernández-Raga *et al.* 2017), lo que conlleva a disminuir la calidad del suelo, pues en la actualidad la media mundial del rendimiento de los cultivos se reduce en 0,3% por esta causa, y se estima que para el 2050 puede incrementarse al 10,0% (FAO y ITPS, 2015).

Este proceso de deterioro del suelo está relacionado con varios factores, entre ellos, la erosividad, que involucra la intensidad de la lluvia, la precipitación total y la velocidad de las gotas de lluvia (Zhang *et al.*, 2018; Wilken *et al.*, 2018); la erodabilidad del suelo, relacionado con la infiltración, capacidad de almacenamiento de agua y textura, entre otras propiedades edáficas (Choo *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019); la inclinación de la pendiente (Mahmoodabadi y Sajjadi, 2016) y la cobertura vegetal (Dai *et al.*, 2018). La interacción de dichos factores y su relación con la pérdida de suelo se ha evaluado desde inicios del siglo XX (Cook, 1937; Wischmeier y Smith, 1958) tanto en condiciones naturales como simuladas. Para las evaluaciones simuladas, en el mundo se utiliza el simulador de lluvia, con el que se han logrado resultados confiables (Mhaske *et al.*, 2019) y para su uso es necesario conocer las condiciones naturales de la zona que se

quiere simular (Dunkerley, 2008), ya que permite manipular los parámetros relacionados con la lluvia, inclinación de la pendiente y algunas propiedades del suelo como humedad y tamaño de los agregados.

La forma más común de presentar la información relacionada con la erosión es por medio de mapas, ya sea de condiciones pasadas, actuales o futuras, en términos de pérdida de horizonte superficial en unidad de profundidad (mm) o pérdida de suelo en unidad de masa por área ($t\ ha^{-1}$ o $Mg\ ha^{-1}$), en un tiempo determinado (año). Dichas condiciones se mapean como unidad coropletica o mediante alguna técnica de interpolación, bien sea determinística o geoestadística. Para la zonificación en Colombia, el Ideam presentó el protocolo para evaluación de la erosión (Otero *et al.*, 2015); sin embargo, la presentación de la información es poco usual, ya que está basada en el porcentaje de pérdida del horizonte "A" y no se cuantifica la cantidad de suelo erosionado, e imposibilita la evaluación de aquellos suelos que carecen de este horizonte.

La situación mundial de pérdida de suelo por erosión hídrica no es ajena a la región cafetera colombiana, la cual según Hincapié y Salazar (2012) genera pérdidas de hasta 60% y 54% en la producción de café, cuando es severa y moderada, respectivamente, en comparación con la producción dada cuando la erosión del suelo es leve. Por dichas razones, la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (FNC) tiene identificadas las zonas de riesgo por este fenómeno en los departamentos de Caldas (Ramírez e Hincapié, 2009) y Quindío (Castro *et al.*, 2017), y utiliza dicha información como herramienta para la gestión del riesgo. También sería útil conocer las zonas de riesgo por erosión hídrica para la región cafetera del departamento de Risaralda, donde los suelos constantemente se ven expuestos a lluvias

con poder erosivo de moderado a muy alto (6.417 a 11.762 MJ mm ha⁻¹, respectivamente). Determinar las pérdidas potenciales de suelo por erosión hídrica en la región cafetera de Risaralda permite identificar los sitios más propensos a pérdidas, en los cuales es necesario enfocar las prácticas para conservar dicho recurso, con lo cual se mitigaría un fenómeno que amenaza la rentabilidad de los cultivos. Dadas las razones anteriores, se realizó una investigación para determinar la erosión hídrica potencial en la región cafetera de Risaralda, en sus cinco unidades cartográficas de suelo más representativas, mediante lluvia simulada.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio correspondió a la región cafetera del departamento de Risaralda (42% del área total del departamento), ubicado en la

zona central de Colombia (05° 32' – 04° 39' N y 75° 23' – 76° 18' W), con una extensión de 4.140 km² (Figura 1), representada por dos unidades geomorfológicas regionales, correspondientes a vertientes erosionales con pendientes pronunciadas y una amplia terraza aluvial; edafológicamente presenta suelos contrastantes, clasificados en más de 12 unidades cartográficas (FNC 1988), de las cuales las unidades Chinchiná, Doscientos, Catarina, Malabar y Balboa, representan el 81% del área, siendo la de mayor área Chinchiná y la de menor Balboa. La precipitación media anual va desde 944 mm hasta 4.173 mm en un régimen bimodal, con máximas precipitaciones en los meses de abril y octubre, con índices de agresividad climática por lluvia entre 6.417 y 11.762 MJ mm ha⁻¹ anuales, correspondientes a erosividad moderada a muy alta (Lince *et al* 2016).

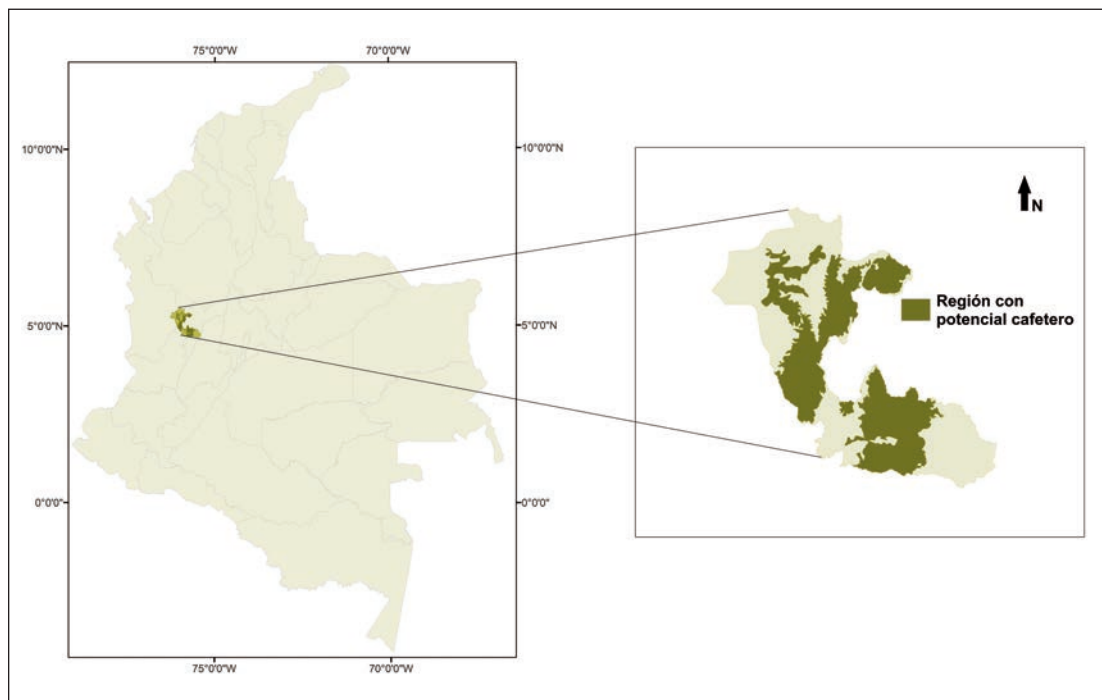


Figura 1. Localización geográfica de la zona cafetera del departamento de Risaralda, Colombia.

En la investigación se emplearon las bases de datos cartográficas de la región con potencial cafetero del departamento de Risaralda (mapa de ecotopos cafeteros) y de las unidades de suelo de la FNC (1988), softwares ArcGIS (V.10.3.1), Stathgraphics (V. 5.2) y Sigmaplot (V. 10), herramientas para la toma de muestras de suelo en el campo, tamiz No.¾ (apertura de orificio de 0,112 cm), simulador de lluvia con boquillas oscilatorias Veejet 80100 e inclinación ajustable, bandejas de lámina galvanizada de 35 cm de ancho, 60 cm de largo y 5 cm de alto, acondicionadas con un anjeo como soporte y una capa de 2 cm de fragmentos de roca tamaño grava y tela tipo muselina como filtro, balanza analítica de alta precisión, estufa con circulación de aire, cápsulas metálicas y elementos de medición volumétrica (beaker, probeta, entre otros).

Se inició con la selección aleatoria de 32 puntos de muestreo, en las cinco unidades cartográficas más representativas en área. Para esto se empleó la herramienta para crear puntos aleatorios del Software ArcGis (V.10.3.1),

y se tomó como polígono de referencia la zona con potencial cafetero del departamento de Risaralda, a cada uno de los puntos se les asignó la unidad cartográfica de suelo correspondiente según la zonificación de la FNC, de tal manera que las unidades de mayor área tuvieron mayor número de puntos de muestreo (Tabla 1, Figura 2).

Una vez identificados los puntos, se seleccionaron los lotes cafeteros más cercanos a ellos y con la ayuda de un palín se tomaron muestras de suelos a una profundidad entre 0 y 5 cm, de aproximadamente 30 kg, conformadas por la mezcla de tres submuestras del mismo sitio y muestras inalteradas en cilindros de 98 cm³ para densidad aparente. Los 30 kg de suelo se empacaron en bolsas plásticas y se llevaron al laboratorio de suelos de Cenicafé Planalto (Manizales, Caldas) para secarlas a la sombra y pasarlas por tamiz No.¾ (apertura de orificio de 0,112 cm). Una vez tamizadas las muestras se separó 1,0 kg para los análisis de materia orgánica (Walkley-Black) y de textura (bouyoucos), según IGAC (2006); el

Tabla 1. Descripción de las unidades cartográficas de suelo muestreadas según FNC (1988).

Unidad	Contenido pedológico	Material parental	Puntos de muestreo
Chinchiná	Typic Hapludands 80%; Andic Dystudepts 10%; otros 10%	Ceniza volcánica	18
Malabar	Typic Hapludalfs 70%; Typic Hapludands 10%; Typic Argiudoll 15%; otros 5%	Ceniza volcánica	2
Doscientos	Typic Eutrudepts 75%; Paralithic Eutrudepts 15%; otros 10%	Basalto hornbléndico biotítico	6
Catarina	Paralithic Udorthents 40%; Typic Eutrudepts 35%; Andic Eutrudepts 10%; otros 15%	Esquisto talcoso biotítico	4
Balboa	Typic Eutrudepts 40%; Paralithic Eutrudepts 35%; Typic Udorthents 15%; otros 10%	Cherts	2

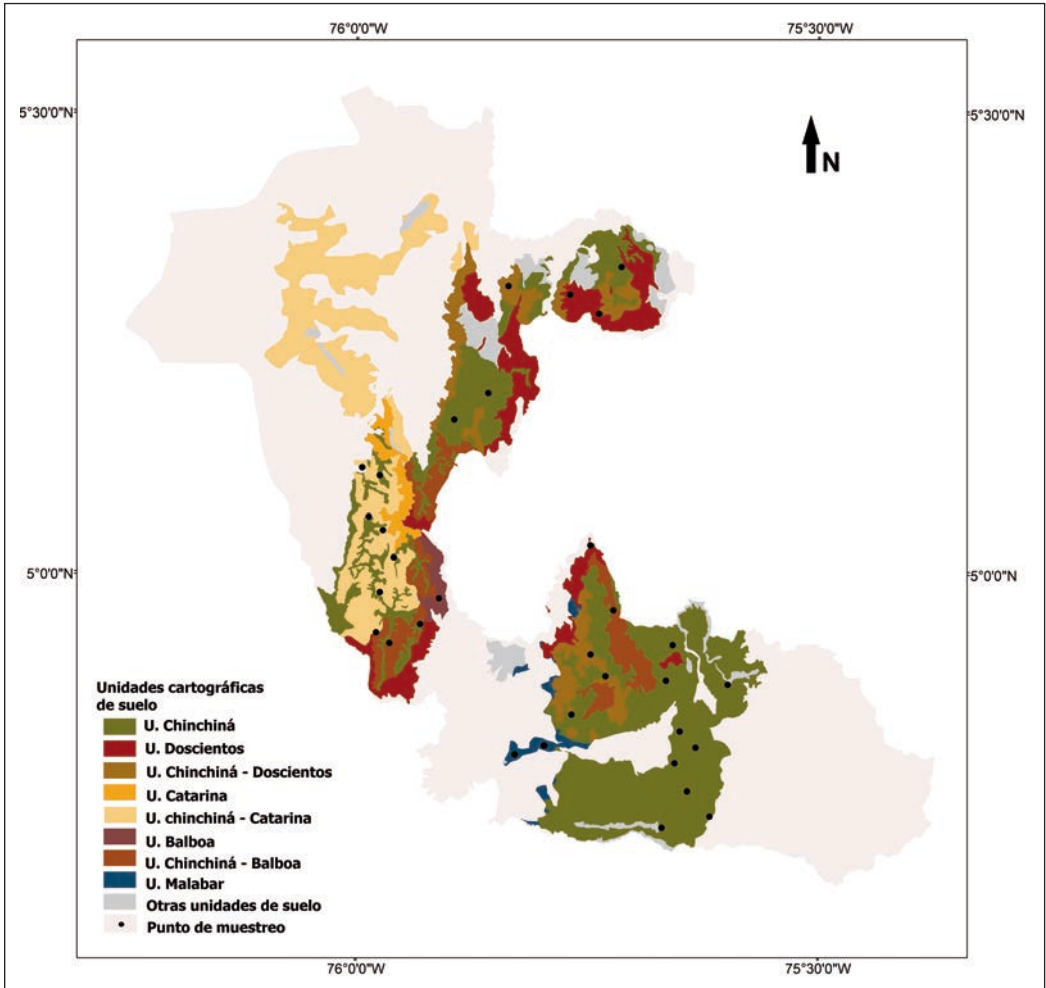


Figura 2. Ubicación de los puntos de muestreo, mapa de unidades cartográficas de suelo, zona cafetera del departamento de Risaralda.

suelo restante se depositó en las bandejas de lámina galvanizada acondicionadas y se realizó la saturación de las muestras por capilaridad durante 24 horas, posterior a esto, los suelos se drenaron durante una hora y se ubicaron en el simulador de lluvia, para ser sometidos a condiciones extremas, con una inclinación de 45° (100%), debido a que en el estudio de suelos de la FNC (1988) para Risaralda algunos sitios con pendientes abruptas, de

>70%, y una intensidad de lluvia simulada promedio de 80 mm h⁻¹, es considerado el valor extremo de precipitación más recurrente en la región cafetera central de Colombia (Rivera, 1990). Posterior a la aplicación de la lluvia, se recolectaron las partículas de suelo erosionadas por arrastre y por salpique y se secaron por separado en cápsulas de aluminio en estufa a 105°C por 24 horas, y luego, se pesaron en balanza analítica.

Los datos obtenidos de pérdida de suelo por arrastre y por salpique se sumaron para obtener la pérdida de suelo total–erosión (kg ha^{-1}) y se obtuvieron los promedios por unidad cartográfica de suelo. Los valores tanto de promedios como sin promediar, se correlacionaron con las variables complementarias (materia orgánica, arenas y arcillas) y se establecieron las expresiones matemáticas lineales que explicaron la pérdida de suelo a partir de dichas variables. Para esto, se utilizaron los softwares Stathgraphics (V. 5.2) y Sigmaplot (V. 10).

Para determinar la erosividad simulada (R , MJ mm ha^{-1}), se empleó la Ecuación <1> propuesta por Foster *et al.* (1981).

$$R = 0,119 + 0,0873 X \text{Log}10 (Im), \text{ en MJ mm ha}^{-1} \text{ <1>}$$

Donde,

R = erosividad

Im = intensidad de la lluvia, en mm h^{-1}

Una vez conocida la erosión causada por la erosividad simulada para cada unidad cartográfica de suelo, se calcularon tres escenarios de susceptibilidad a la erosión, de 6.400, 9.200 y 12.000 MJ mm ha^{-1} , definidos según los niveles de erosividad de la zona cafetera de Risaralda (Lince *et al.*, 2016). El valor de la erosión en kilogramos, se llevó a pérdida del horizonte superficial (cm), y mediante la densidad aparente y los datos finales fueron espacializados como unidad coroplética, en escala 1:100.000, con el software ArcGis (V.10.3.1).

RESULTADOS

Los valores promedio de erosión total en la región cafetera del departamento de Risaralda ante la simulación de eventos torrenciales de 80

mm h^{-1} , con valores de erosividad entre 1.578,56 y 1.861,67 MJ mm ha^{-1} , en suelo descubierto y con una pendiente de 45° , oscilaron entre 4,10 y 10,09 t ha^{-1} (Tabla 2). Con relación a las formas de pérdida de suelo, se encontró que fueron mayores las pérdidas por arrastre que por salpique (Figura 3).

La pérdida de suelo total se correlacionó significativamente ($p > 0,05$) con el contenido de arenas y arcillas (Figura 4), y las pérdidas por salpique se correlacionaron con las arcillas. La erosión fue explicada en 15,12%, por medio de la expresión matemática que se presenta en la Ecuación <2>.

$$\text{Erosión} = 2,72714 + 0,12172 x \text{arena} \\ (\text{valor } p < 0,05 \geq 0,01) \text{ <2>}$$

En el análisis individual por unidad cartográfica de suelo no se encontró explicación matemática de la erosión por medio de las variables incluidas; sin embargo, la erosión por salpique en la Unidad Doscientos fue explicada en 66,31% por los contenidos de arcilla (Ecuación <3>).

$$\text{Erosión por salpique} = 5,93858 \\ -0,0970817 x \text{Arcilla} \text{ <3>}$$

La simulación de los tres escenarios erosivos, representativos de la región cafetera de Risaralda, mostró que las pérdidas teóricas y potenciales de suelo por erosión hídrica, pueden estar entre 16,5 y 65,0 t ha año^{-1} , que pueden llegar a representar pérdidas potenciales entre 1,8 mm y 6,3 mm de suelo anuales (Tabla 3). Con una erosividad de 6.400 MJ mm ha^{-1} , el 12% de la zona cafetera de Risaralda puede perder entre 1 y 3 mm de suelo anual y el 87% restante entre 3 y 5 mm; con una erosividad de 9.200 MJ mm ha^{-1} , el 86% del área puede perder entre 5 y 8 mm año^{-1} , el 13% del área puede perder entre 1 y 3 mm año^{-1} y el 2% entre 3 y 5 mm año^{-1} ; con una erosividad de 12.000

Tabla 2. Valores promedio y error estándar para las variables cuantificadas en las cinco unidades cartográficas de suelo de la región cafetera de Risaralda.

Propiedad	Unidad cartográfica de suelo									
	Balboa (n=2)		Catarina (n=4)		Chinchiná (n=18)		Doscientos (n=6)		Malabar (n=2)	
	promedio	E.E.	promedio	E.E.	promedio	E.E.	promedio	E.E.	promedio	E.E.
Pérdida de suelo										
Arrastre, t ha ⁻¹	3,03	0,67	5,43	0,26	5,51	0,58	4,65	0,91	7,08	0,34
Salpique, t ha ⁻¹	1,05	0,33	2,98	0,42	2,91	0,27	2,30	0,64	3,01	0,61
Erosión total, t ha ⁻¹	4,08	1,00	8,22	0,48	8,42	0,79	6,95	1,52	10,09	0,96
Lluvia aplicada										
Intensidad, mm h ⁻¹	74,06	-	77,22	-	79,72	-	86,07	-	80,75	-
Erosividad, MJ mm ha ⁻¹	1.578,56	-	1.716,07	-	1.834,61	-	2.133,22	-	1.861,67	-
Densidad aparente, g cm ⁻³	0,93	0,14	0,77	0,04	0,81	0,04	1,17	0,06	1,04	0,08
Materia orgánica, %	11,10	1,70	14,48	0,94	12,54	1,00	8,57	1,16	7,70	1,10
Arenas, %	38,00	7,00	45,00	0,82	46,72	1,93	32,00	5,66	43,00	2,00
Arcillas, %	35,50	5,50	22,00	1,78	23,89	2,27	37,50	5,38	31,50	1,50

E.E.: error estándar

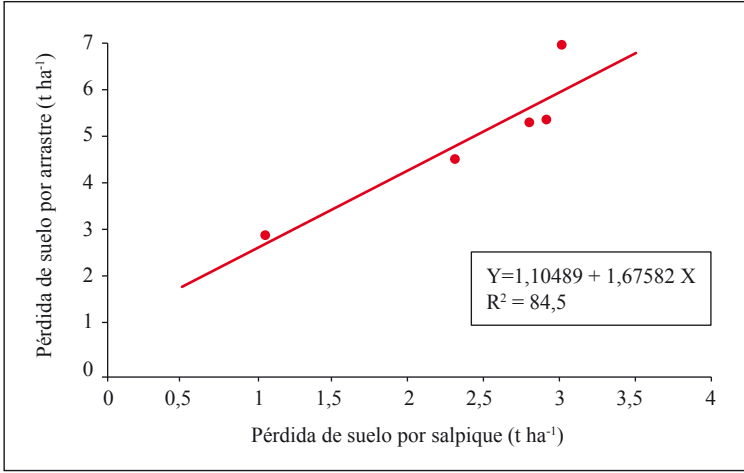


Figura 3. Relación entre la pérdida de suelo por arrastre y salpique ($t\ h^{-1}$) en cinco unidades de suelo de la región cafetera de Risaralda (Colombia), cuyos datos origen se presentan en la Tabla 2.

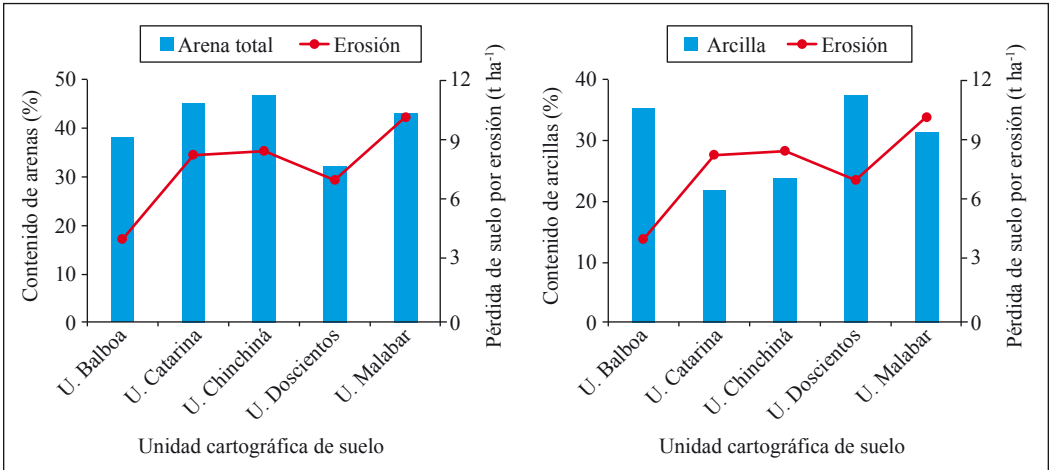


Figura 4. Distribución del contenido promedio de arenas, arcillas y erosión total, para las cinco unidades cartográficas de interés, en el departamento de Risaralda (Colombia).

Tabla 3. Simulación de pérdida de suelo potencial ($t\ ha^{-1}$) a causa de la erosión hídrica, de cinco unidades cartográficas en Risaralda, frente a tres eventos erosivos.

Erosividad anual	Unidad cartográfica de suelo				
	Balboa	Catarina	Chinchiná	Doscientos	Malabar
	Erosión anual ($t\ ha^{-1}$)				
6.400 MJ mm ha^{-1}	16,53	30,67	29,38	20,84	34,69
9.200 MJ mm ha^{-1}	23,76	44,09	42,23	29,96	49,86
12.000 MJ mm ha^{-1}	30,99	57,51	55,08	39,07	65,04

MJ mm ha⁻¹, el 87% del área puede perder entre 5 y 8 mm año⁻¹ y el área restante entre 3 y 5 mm año⁻¹ del horizonte superficial del suelo (Figura 5).

DISCUSIÓN

Los resultados hallados indican que la región cafetera de Risaralda puede estar expuesta a

grandes pérdidas de suelo cultivable a causa de la erosión hídrica. Los valores reales y teóricos de erosión potencial encontrados para la región cafetera de Risaralda se ubican en los mismos rangos que los reportados para los municipios de la cordillera Central, en el departamento de Quindío (Castro *et al.*, 2017) y para la región cafetera de Caldas (Centro, Occidente y Norte) (Ramírez e Hincapié, 2009).

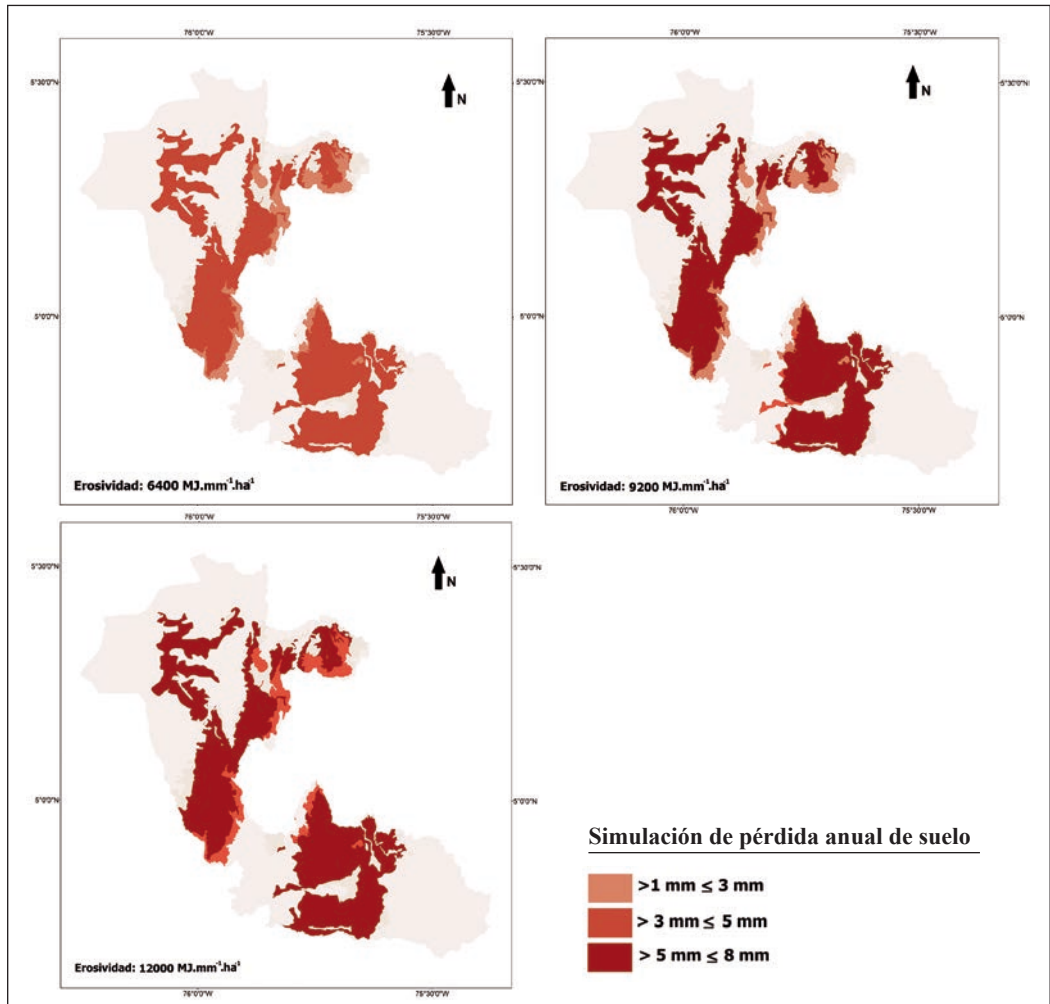


Figura 5. Espacialización de la pérdida anual de suelo superficial (mm), a causa de la erosión hídrica simulada para tres eventos erosivos 6.400, 9.200 y 12.000 MJ mm ha⁻¹.

Los valores de erosión total correlacionados positivamente con los contenidos de arena, se basan en una relación directa entre la fuerza motriz y el tamaño de las partículas (Choo *et al.*, 2018).

La relación entre las pérdidas de suelo por salpique y arrastre, hallada en esta investigación, también ha sido reportada por Hammad *et al.* (2004); sin embargo, esta puede cambiar, ya que está relacionada con la intensidad de la lluvia (Zhang *et al.*, 2018; Hao *et al.*, 2019), la inclinación de la pendiente (Mahmoodabadi y Sajjadi, 2016) y el tamaño medio de las partículas de arena (Choo *et al.*, 2018). Con relación a las demás correlaciones lineales encontradas, el mayor porcentaje de explicación fue de 15,12% con la variable contenido de arena, lo cual es bajo, tampoco se encontró explicación con los contenidos de materia orgánica, condición que es reportada en la literatura por Zhang *et al.* (2019). La relación inversa que se encontró entre el suelo perdido por salpique y el contenido de arcillas en la Unidad Doscientos se atribuyó a que las arcillas menores de 20 μm mejoran la cohesión y bajan la pérdida de suelo, mientras que las arcillas mayores de 20 μm se desprenden fácilmente y se correlacionan con una mayor pérdida de suelo (Knapen *et al.*, 2007), situación que es factible en dichos suelos de origen ígneo básico, que por la naturaleza sus minerales primarios meteorizan en arcillas de tamaño fino.

Para la Unidad Malabar, proveniente de cenizas volcánicas, se encontró la mayor pérdida de suelo y los menores contenidos de materia orgánica, dinámica que se relacionó con el poder aglutinante de esta última sobre las partículas de suelo (Ouyang *et al.*, 2018), la cual es mayor en la unidad Chinchiná que, en mineralogía y distribución del tamaño de partículas, es similar a Malabar, y se encontró

menor pérdida de suelo. Los menores niveles de erosión se presentaron en la Unidad Balboa, posiblemente atribuido al material parental, que por tratarse principalmente de minerales silíceos son más resistentes al intemperismo que las otras unidades litológicas estudiadas, esto sumado al contenido de materia orgánica y a una proporción similar de arenas, limos y arcillas. Los resultados de la investigación indicaron que el material parental, entre otras propiedades, desempeña un papel importante en los procesos erosivos, tal como lo indican Rodrigo-Comino *et al.* (2018).

Los niveles de pérdida de suelo en la zona de estudio a una intensidad de lluvia de 80 mm h^{-1} , comparados con las clasificaciones propuestas por varios autores (Li *et al.*, 2014) son muy bajos para la unidad Balboa y bajos para las demás unidades cartográficas. Para las simulaciones de 6.400 y 9.200 MJ mm ha^{-1} , son bajos para la unidad Balboa y moderados para las demás unidades y, finalmente, en la simulación de 12.000 MJ mm ha^{-1} , es moderado para Balboa y severo para las otras cuatro unidades de suelo. Sin embargo, las pérdidas de suelo por erosión hídrica pueden ser disminuidas mediante la implementación de prácticas de conservación de suelos, ya que según los resultados de Dai *et al.* (2018), la implementación de cobertura muerta disminuye las pérdidas de suelo en 81% y la labranza reducida en un 49%, lo que llevaría las máximas pérdidas simuladas (65,04 t ha^{-1}) a 12,34 t ha^{-1} , pasando de un nivel severo a bajo. Dado que los resultados incluidos son restringidos a una pendiente de 45° y suelo sin cobertura, se considera pertinente para próximos estudios cuantificar la pérdida de suelo a diferentes pendientes y con diferentes tipos de cobertura.

La investigación permitió concluir que la región cafetera de Risaralda está expuesta a niveles de pérdida de suelo por erosión

hídrica de bajos a severos, con pérdidas por arrastre debido a la escorrentía mayores que por salpique, los cuales varían según la unidad cartográfica de suelo y la intensidad de la lluvia.

Se considera pertinente que los caficultores implementen prácticas de conservación de suelos, dado que la zona cafetera de Risaralda presenta condiciones que favorecen la erosión hídrica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la ONG Solidaridad Andes, especialmente al ingeniero Carlos Isaza por el apoyo en la investigación, al Comité Departamental de Cafeteros de Risaralda, al investigador científico Juan Carlos Gómez Soto y a las Disciplinas de Suelos y Agroclimatología de Cenicafé.

LITERATURA CITADA

- Castro, A.F., Lince, L.A., Riaño, O. (2017). Determinación del riesgo a la erosión potencial hídrica en la zona cafetera del Quindío, Colombia. *Revista de investigación agraria y ambiental*, 8(1), 17-26.
- Choo, H., Park, K.H., Won, J., & Burns, S.E. (2018). Resistance of coarse-grained particles against raindrop splash and its relation with splash erosion. *Soil and tillage research*, 184, 1-10.
- Cook, H.L. (1937). The nature and controlling variables of the water erosion process. *Soil science society of America Journal*, 1(C), 487-494.
- Dai, C., Liu, Y., Wang, T., Li, Z., & Zhou, Y. (2018). Exploring optimal measures to reduce soil erosion and nutrient losses in southern China. *Agricultural water management*, 210, 41-48.
- Dunkerley, D. (2008). Rain event properties in nature and in rainfall simulation experiments: a comparative review

with recommendations for increasingly systematic study and reporting. *Hydrological processes: An international journal*, 22(22), 4415-4435.

- FAO. (2015). Understanding mountain soils: A contribution from mountain areas to the International year of soils 2015. Rome, Italy. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i4704e.pdf>
- FAO, ITPS. (2015). Status of the world's soil resources (SWSR)–Main report. Food and agriculture organization of the United Nations and Intergovernmental technical panel on soils. Rome, Italy. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i5199e.pdf>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia–FNC. (1988). Estudio de zonificación y uso potencial de los suelos en la zona cafetera del departamento de Risaralda. Bogotá, Colombia.
- Fernández-Raga, M., Palencia, C., Keesstra, S., Jordan, A., Fraile, R., Angulo-Martinez, M., & Cerda, A. (2017). Splash erosion: a review with unanswered questions. *Earth-science reviews*, 171, 463-477.
- Foster, G.R., McCool, D.K., Renard, K.G., & Moldenhauer, W.C. (1981). Conversion of the universal soil loss equation to SI metric units. *Journal of Soil and Water Conservation*, 36(6), 355-359.
- Hammad, A.A., Lundekvam, H., Borresen, T. (2004). Adaptation of RUSLE in the eastern part of the mediterranean region. *Environmental management*, 34(6), 829-841.
- Hao, H.X., Wang, J.G., Guo, Z. L., Hua, L. (2019). Water erosion processes and dynamic changes of sediment size distribution under the combined effects of rainfall and overland flow. *Catena*, 173, 494-504.
- Hincapié, E., Salazar, L.F. (2012). Impacto de la erosión hídrica sobre las propiedades físicas y químicas del suelo y sobre la producción del cultivo de café. *Revista Cenicafé*, 62(2), 79-89.
- Otero, J., Sánchez, R., Ojeda, E., Álvarez, C., Gómez, C., Carrillo, H., ... & Camacho, M. *Protocolo para la identificación y evaluación de los procesos de degradación de suelos y tierras por erosión*. Recuperado de <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/023647/Protocolo-erosion.pdf>
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi -IGAC. (2006). Métodos analíticos del laboratorio de suelos (6ª ed.). Bogotá, Colombia: IGAC.

- Knäpen, A., Poesen, J., Govers, G., Gyssels, G., Nachtergaele, J. (2007). Resistance of soils to concentrated flow erosion: A review. *Earth-science reviews*, 80 (1-2), 75-109.
- Li, X., Zhang, X., Zhang, L., Wu, B. (2014). Rainfall and vegetation coupling index for soil erosion risk mapping. *Journal of soil and water conservation*, 69(3), 213-220.
- Lince, L.A., Castaño, W.A., Castro, A.F., & Torres, F.A. (2016). Erosividad de la lluvia en la región cafetera de Risaralda, Colombia. *Revista de investigación agraria y ambiental*, 7(1), 37-45.
- Mahmoodabadi, M., Sajjadi, S.A. (2016). Effects of rain intensity, slope gradient and particle size distribution on the relative contributions of splash and wash loads to rain-induced erosion. *Geomorphology*, 253, 159-167.
- Mhaske, S.N., Pathak, K., & Basak, A. (2019). A comprehensive design of rainfall simulator for the assessment of soil erosion in the laboratory. *Catena*, 172, 408-420.
- Ouyang, W., Wu, Y., Hao, Z., Zhang, Q., Bu, Q., & Gao, X. (2018). Combined impacts of land use and soil property changes on soil erosion in a mollisol area under long-term agricultural development. *Science of the total environment*, 613, 798-809.
- Ramírez, F.A., & Hincapié, E. (2009). Riesgo a la erosión en la zona cafetera central del departamento de Caldas. *Revista Cenicafé*, 60(2):173-189.
- Rivera, J.H. (1990). Determinación de los índices de erosividad, erodabilidad y erosión potencial en la zona cafetera central colombiana (Caldas, Quindío y Risaralda). Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ingeniería agronómica. 310 p. Tesis
- Rodrigo-Comino, J., Novara, A., Gyasi-Agyei, Y., Terol, E., & Cerdà, A. (2018). Effects of parent material on soil erosion within Mediterranean new vineyard plantations. *Engineering geology*, 246, 255-261.
- Wilken, F., Baur, M., Sommer, M., Deumlich, D., Bens, O., & Fiener, P. (2018). Uncertainties in rainfall kinetic energy-intensity relations for soil erosion modelling. *Catena*, 171, 234-244.
- Wischmeier, W.H., & Smith, D.D. (1958). Rainfall energy and its relationship to soil loss. *Eos, Transactions american geophysical union*, 39(2), 285-291.
- Zhang, Q., Wang, Z., Wu, B., & Shen, N. (2018). Identifying sediment transport capacity of raindrop-impacted overland flow within transport-limited system of interrill erosion processes on steep loess hillslopes of China. *Soil and Tillage Research*, 184, 109-117.
- Zhang, B.J., Zhang, G.H., Yang, H.Y., & Wang, H. (2019). Soil resistance to flowing water erosion of seven typical plant communities on steep gully slopes on the loess plateau of China. *Catena*, 173, 375-383.

RELACIONES ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE COMPUESTOS QUÍMICOS DEL CAFÉ Y LAS TEMPERATURAS DE TORREFACCIÓN

Gloria Inés Puerta Quintero*, Luz Fanny Echeverri Giraldo*

PUERTA Q., G. I.; ECHEVERRI G., L. F. Relaciones entre las concentraciones de compuestos químicos del café y las temperaturas de torrefacción. Revista Cenicafé 70(2):67-80. 2019

El color del café tostado es la variable más usada para finalizar el proceso de torrefacción del café. En este proyecto se fijaron las temperaturas inicial y final de tostación para controlar y culminar este proceso. Se cuantificaron compuestos químicos en café verde y tostado. El café se procesó por fermentación sumergida y se tostó a temperaturas iniciales de 185, 190, 195, 200 y 210°C y finales de 175, 180 y 185°C. A las temperaturas iniciales de tostación no se encontraron diferencias significativas en los contenidos de lípidos, proteínas, azúcares, alcaloides, ni ácidos químico, cítrico, málico, fórmico y succínico. Dependiendo de las temperaturas de tostación variaron las concentraciones de los compuestos químicos del café tostado. Al incrementarse la temperatura inicial disminuyeron los lípidos y el ácido acético y aumentaron los ácidos químico y cítrico. Con la elevación de la temperatura final aumentaron el tiempo, la transferencia de masa y los contenidos de ácidos acético, láctico, succínico, fórmico y oxálico, además, el color del grano se volvió más oscuro y las concentraciones de sacarosa, trigonelina y ácidos cítrico y málico decrecieron. Mediante la fijación de las temperaturas de tostación se puede contribuir a la obtención de consistencia en la composición química y calidad del café.

Palabras clave: Café, calidad, tostación, fermentación, ácidos, azúcares, cafeína, lípidos, color.

RELATIONSHIPS BETWEEN THE CONCENTRATION OF COFFEE CHEMICAL COMPOUNDS AND ROASTING TEMPERATURES

The color is the most used variable to finish the roasting process of coffee. In this project, initial and final roasting temperatures were set to control and complete this process. The chemical compounds were analyzed in green and roasted coffee. Coffee was produced by submerged fermentation and roasted at initial temperatures of 185, 190, 195, 200 and 210°C and final temperatures of 175, 180 and 185°C. At the initial roasting temperatures no significant differences were found in the contents of lipids, proteins, sugars, alkaloids, or quinic, citric, malic, formic and succinic acids. According to the roasting temperatures, the concentrations of chemical compounds in roasted coffee changed. As the initial temperature increased, the lipids and acetic acid decreased and the quinic and citric acids increased. With the elevation of the final temperature the process time, the mass transfer and the contents of acetic, lactic, succinic, formic and oxalic acids increased. In addition, the color of the grain became darker and the concentrations of sucrose, trigonelline and citric and malic acids decreased. The setting of the roasting temperatures may contribute to obtaining consistency in the chemical composition and quality of coffee.

Keywords: Coffee, quality, roasting, fermentation, acids, sugars, caffeine, lipids, color.

*Investigador Científico III (hasta 31 diciembre de 2018) y Asistente de Investigación, respectivamente. Disciplina Calidad, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

Mediante la tostación o torrefacción del café se generan a partir del grano verde, una gran variedad de sustancias químicas que producen los diferentes sabores y aromas a la bebida (Puerta, 2011). En la tostación se transfiriere calor y masa, y ocurren múltiples reacciones químicas y cambios físicos en el grano. Es así como según se desarrolle este proceso térmico pueden intensificarse los atributos sensoriales o deteriorarse la calidad del café (Puerta, 1998, 2000).

La selección de la temperatura inicial o de precalentamiento depende de la tecnología del torrefactor, la calidad del grano de café, la variedad, la humedad, la densidad, el tamaño, el grado de tostado y la bebida a preparar. Se han registrado temperaturas entre 140 y 300°C de ingreso de los granos de café verdes a los tambores o cámara del torrefactor (Bonnländer, Eggers, Engelhardt, & Maier, 2005; Franca, Oliveira, Oliveira, Mancha & Augusti, 2009; Ginz, Balzer, Bradbury, & Maier, 2000; Ortolá, Londoño, Gutiérrez, & Chiralt, 1998).

Generalmente, la terminación de este proceso se realiza cuando el grano de café tostado alcanza un color determinado, el cual puede medirse visualmente con tarjetas de referencia o con equipos colorímetros; también suele evaluarse el grado de tosti3n por el porcentaje en pérdida de masa entre el café verde y el tostado.

En la literatura se encuentran diferentes referencias sobre los contenidos químicos del café y sobre los mecanismos de las reacciones de formación de los compuestos en el café tostado (Bennat, Engelhardt, Kiehne, Wirries, & Maier, 1994; Blanc, 1977; Chung, Kim, Youn, Lee, & Moon, 2013; Clifford, 2006; Deshpande & Aguilar, 1975; Eggers, Von Blittersdorf, Fischer, & Cammenga, 2004; Farah *et al.*, 2006; Flament, 2001; M. Ginz & Engelhardt, 2001; Michael Ginz *et al.*, 2000; Gloess *et*

al., 2014; Gretsche, Sarrazin, & Liardon, 1999; Holscher, Vitzthum, & Steinhart, 1990; Illy & Viani, 2005; Lentner & Deatherage, 1959; Lyman, Benck, Dell, Merle, & Murray-Wijelath, 2003; Munari, Mastrocola, Nicoli, & Severini, 1997; Puerta, 1998, 2000, 2011, 2014). Así, se conoce que los lípidos se encuentran como aceites en el endospermo y como ceras en la superficie del grano (Illy & Viani, 2005; Puerta, 2011; Speer & Koölling-Speer, 2001; Speer, Sehat, & Montag, 1993) y contribuyen al cuerpo de la bebida y a la retención de los compuestos del aroma del café (Illy & Viani, 2005; Puerta, 2011). Speer & Koölling-Speer (2001) hallaron formación de diterpenos y ácidos grasos y compuestos fenólicos de la degradación de los ácidos clorogénicos, cuando se incrementó la temperatura en la tostación del café de 242 a 254°C.

En las reacciones de Strecker y Maillard, a partir de los aminoácidos, proteínas y péptidos del café verde se forman compuestos que modifican las cualidades del aroma, color, sabor y amargor de la bebida (Ginz & Engelhardt, 2001; Homma, 2001; Ledl & Schleicher, 1990; Puerta, 2011). Ludwig, Raczek, & Kurzrock (1995) hallaron que la proteína aislada de granos de café arábica contenía 15% de albúmina y 85% globulina, no tenía color, sabor, ni aroma, pero sí tenía galactosa, arabinosa, ramnosa, glucosa, glutamina/ácido glutámico, glicina y asparagina/ácido aspártico. Simulando la tostación del café, calentaron este aislado a 200°C, y obtuvieron un compuesto de color marrón claro con un leve olor y sabor a café tostado que contenía péptidos y aminoácidos.

Dependiendo del grado de maduración y de la variedad botánica, el café verde de la especie arábica contiene de 5,2% a 7,6% de ácidos clorogénicos (Clifford & Kazi, 1987; Marín & Puerta, 2008); en la tostación se forman ácido quínico, quinolactonas, ácido cafeico y volátiles (Clifford, 2006; Nakabayashi

& Kojima, 1980) en cantidades que dependen del grado de tostación y de la especie (Bicho, Leitao, Ramalho, & Lidon, 2011; Scholz & Maier, 1991).

Más de la mitad del peso del grano verde está constituido por carbohidratos, polisacáridos (arabinogalactano, manano/galactano, celulosa), la sacarosa como azúcar principal y también arabinosa, manosa, fructosa, glucosa, ramnosa y glicósidos (Bradbury, 2001; Illy & Viani, 2005). De la polimerización de compuestos fenólicos y de la glicación de Maillard, entre azúcares reductores y aminoácidos se forman las melanoidinas (polímero marrón) y varios volátiles como furanos, pirazinas y aldehídos (Homma, 2001; Ledl & Schleicher, 1990).

La cafeína, trigonelina y teobromina son los alcaloides mayoritarios en ambas especies del café (Ky *et al.*, 2001); en robusta también se han detectado trazas de teofilina (Clifford & Kazi, 1987). Los alcaloides junto con los compuestos fenólicos, las melanoidinas y las proteínas contribuyen al sabor amargo del café (Michael Ginz *et al.*, 2000; Homma, 2001).

Tanto el café verde como el tostado contienen ácidos alifáticos que influyen en la acidez de la bebida. A medida que aumentó la pérdida de masa en la tostación, la bebida de café presentó menor acidez, un cuerpo más espeso, mayor intensidad del sabor amargo y un valor más alto de pH (Puerta, 1998, 2000).

Engelhardt y Maier (1985), citados por (Homma, 2001) cuantificaron en cafés tostados comerciales los siguientes ácidos: málico, cítrico, fórmico, acético, glicólico, succínico, láctico, tartárico y clorogénico, entre otros 11 ácidos. Bähre y Maier (1996, 1997, 1999) citados por (Balzer, 2001) identificaron 38 ácidos en café tostado de Colombia y Kenia, que provenían del café verde así: de los carbohidratos, 21 ácidos incluidos el glicólico

y el láctico, del cítrico, cinco ácidos como el succínico, y del málico se formaron el fumárico y el maleico.

M. Ginz & Engelhardt (2001) adicionaron sacarosa, glucosa y fructosa a granos verdes de café robusta de Indonesia, los secaron y tostaron por lecho fluido a diferentes temperaturas 150, 200, 220, 240 y 280°C por 3 minutos, midieron las concentraciones de los ácidos fórmico, acético, glicólico y láctico y confirmaron que la sacarosa era el principal precursor de estos ácidos. Borém *et al.* (2016) relacionaron varios ácidos, la sacarosa y los atributos sensoriales en variedades Borbón y Mundo Novo del Brasil.

La demanda por cafés de mejor calidad y consistencia de los compradores internacionales ha conducido en la última década al desarrollo de diferentes tipos de procesamiento como las fermentaciones controladas. La fermentación es un proceso bioquímico que se usa principalmente en la industria de alimentos y medicamentos.

En el café, se ha demostrado que la calidad del café producido por fermentación depende de factores como la variedad y la temperatura ambiente, entre otros. Mediante fermentaciones del café controladas a diferentes temperaturas y dependiendo del sistema sólido (sin agua) o sumergido (en agua) se obtuvieron cafés con sabores especiales en diversas proporciones, como dulces, chocolates, tostados frutales y cítricos en la bebida (Puerta, 2012, 2014). Para lograr la consistencia en la calidad y composición química del café es necesario identificar el efecto de la variación de las temperaturas de tostación en los cambios químicos del café, en particular para el café producido mediante fermentaciones especiales.

En este proyecto se cuantificaron las variaciones de los compuestos químicos del café tostado producido por fermentación sumergida

para diferentes temperaturas iniciales y finales de tostación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una investigación descriptiva cuantitativa. Se evaluaron trece tratamientos de tostación a diferentes temperaturas iniciales y finales, aplicados a café producido por fermentación. Se cuantificaron compuestos químicos en el café verde y en el café tostado.

Sitio. Los procesos de fermentación, tostación y los análisis químicos se realizaron en los laboratorios de la Disciplina de Calidad de Cenicafé (Manizales, Caldas), que se localizan a 05° 00' latitud Norte, 75° 36' longitud Oeste y 1.310 m de altitud, con temperatura media de 21,0°C, temperatura máxima de 27,6°C, temperatura mínima de 16,8°C y humedad relativa del 77%.

Materiales. Se utilizó café de la variedad Castillo[®], cultivado en la Estación Experimental Naranjal de Cenicafé, ubicada en el municipio de Chinchiná (Caldas), a 4° 58" latitud Norte, 75° 39" longitud Oeste y 1.381 m de altitud, con las siguientes condiciones: temperatura media anual de 21,6°C, temperatura mínima de 17,3°C, temperatura máxima de 27,2°C, humedad relativa del 77,8%, precipitación media anual de 2.718 mm, días de lluvia 216 y brillo solar de 1.642 h.

Proceso de beneficio. Se procesaron lotes de 50 kg café maduro por fermentación controlada, sumergida al 30% durante 18 h a temperatura ambiente de 20 ±0,5°C. Se siguieron las buenas prácticas y los protocolos de fermentación de café publicados en los Avances Técnicos No. 422 y 454 (Puerta, 2012; Puerta & Echeverry, 2015). El café se secó al sol en paseras con malla hasta una humedad entre el 10% y el 12%.

Trilla y clasificación. La trilla se realizó en una trilladora de laboratorio marca Granel, en sub-lotes de 2.000 g de café pergamino. Se retiraron los defectos e impurezas del grano almendra y, luego se hizo la granulometría en tamices circulares, *Serie Seedburo Equipment Company*, USA, se escogieron solo los granos de café sanos con tamaño superior a 15/64 de pulgada, para la conformación de las unidades experimentales. De cada lote se tomaron 300 g de café verde, se molieron en frío con nitrógeno líquido en molino para café verde y se prepararon para los análisis químicos.

Tratamientos. Se evaluaron trece tratamientos de tostación de cuatro temperaturas iniciales (185, 190, 195 y 200°C), cada una con tres temperaturas finales (175, 180 y 185 °C) y un tratamiento de temperatura inicial de 210°C con una temperatura final de 180°C. La unidad experimental estuvo conformada por 150 g de café verde y por cada tratamiento de tostación se evaluaron seis unidades experimentales, asignadas a los tratamientos, de acuerdo con el diseño experimental completamente aleatorio.

Tostación. Las muestras de café se tostaron en tostadora marca Quantik TC300AR, con capacidad de 150 g de café verde en cada tambor giratorio y con calentamiento eléctrico. Mediante el panel digital se fijaron las temperaturas inicial y final, y la potencia se estableció en 100%. Durante la tostación, todas las muestras de café pasaron por la desecación, se observaron los cambios de color, se escuchó la primera crepitación antes de culminar el proceso. Al alcanzarse la temperatura final del tratamiento se descargó el café tostado en bandejas y se enfrió con ventilador, luego se empacó en bolsas de tres láminas con válvula para la desgasificación. Se registró el tiempo total entre la carga y el descargue del café de la tostadora con un cronómetro, se cuantificó la pérdida de masa mediante la diferencia de pesos entre el café verde y tostado, medidos

en una balanza digital; el color del tostado molido se analizó con las tarjetas Agtron SCA en las cuales, los valores 75 a 95 corresponden a tostación clara o canela, 55 a 65 a tostación media y de 25 a 45 a tostación oscura.

Molienda. El café tostado se molió un día después de su tostación en molino de café marca Probat Kenia a un tamaño de partícula entre 500 a 710 micrómetros (mallas 32 a 24 serie Tyler USA).

Variables respuesta. En el café verde y tostado se midieron las concentraciones de lípidos, proteína, cafeína, trigonelina, teobromina, sacarosa, glucosa, fructosa, ácidos oxálico, cítrico, tartárico, málico, quínico, succínico, láctico, fórmico y acético; proporción de ácidos

grasos palmítico, linoleico, oleico, esteárico y araquídico en relación con el total de lípidos. Se usaron métodos estandarizados de la química analítica y técnicas de cromatografía para el análisis de los compuestos químicos del café (Tabla 1). Todos los resultados se expresan en base húmeda. En la cromatografía se determinaron juntos los ácidos glicólico y succínico, que en adelante se expresará en el texto solo como ácido succínico.

Análisis estadístico. Se estimaron la media y el error estándar de las variables respuesta tiempo, color y pérdida de masa, y los mínimos, máximos, promedio y error para las variables químicas. Se hizo el análisis de varianza para evaluar el efecto de la temperatura inicial, de la final y de los tratamientos en cada una de las

Tabla 1. Metodologías de análisis de los compuestos químicos del café verde y tostado.

Compuestos	Método de análisis	Técnica y equipos
Lípidos totales	AOAC 963.15	Gravimétrico, Soxhlet, balanza, rota evaporador, estufa, desecador.
Ácidos grasos	AOAC 969.33	Cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP-6890, con detector de masas MSD 5893, columna: HP-5MS 5% Phenyl Methyl siloxane, 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm (HP-19091S-433)
Proteína	Factor 6,25 del contenido de Nitrógeno (AOAC 990.03-2002)	Combustión total, Dumas, analizador elemental CHN TruSpec, marca LECO
Cafeína y otros alcaloides	ISO 20481:2008	Cromatografía HPLC Waters 600E, detector PDA 996, Columna Symmetry C18 (5 µm X 4.6 mm X 250 mm), Ref WAT054275, balanza, centrifuga, reflujo.
Azúcares	Waters Application Notes: Analysis of sugars LAH-0210	Cromatografía HPLC Waters 600E, detector IR-410, columna Sugar-Pak 1 (6,5 µm X 300 mm), Ref. WAT085188, balanza, centrifuga, reflujo.
Ácidos alifáticos	Agilent Technologies, Inc. (Publicación No.5990-8264EN).	Cromatografía líquida HPLC Waters 600E, detector PDA 996, columna Agilent Hi-Plex H, 7,7 × 300 mm, 8 µm Ref. PL170-6830PDA, balanza.

variables químicas y la comparación Tukey al nivel del 5%. Se analizó la variación entre el café verde y el café tostado de los contenidos químicos. Se realizaron regresiones entre las concentraciones de los compuestos químicos del grano de café tostado respecto a las temperaturas de tostación de café, el ajuste se realizó con el criterio de los mínimos cuadrados promedio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los contenidos químicos medios del café verde y tostado se observan en la Tabla 2. En el café verde no hubo diferencias significativas en los contenidos de lípidos, proteínas, azúcares, alcaloides, ni ácidos, a las temperaturas iniciales de tostación.

Con el incremento de la temperatura final de torrefacción se incrementó el tiempo, la pérdida de masa y el color del café tostado cambió a un marrón más oscuro (menor valor Agtron). A las temperaturas finales de 175, 180 y 185°C, los valores medios de color del café y de la pérdida de masa correspondieron a tostaciones grado medio (Tabla 3).

Con el incremento en la temperatura final de tostación, disminuyeron en relaciones lineales las concentraciones de la sacarosa, la trigonelina y los ácidos cítrico y málico del café tostado, por el contrario, aumentaron los contenidos de ácidos acético, láctico, succínico, oxálico y fórmico (Figura 1).

Lípidos. En promedio, el café verde contenía 9,4% (10,6% b.s.) y el tostado 13,1% (13,2% b.s.) de lípidos. Se observó disminución de los lípidos con el aumento de las temperaturas inicial y final, con valor de 11,4% en café tostado a 210-180°C, estadísticamente menor con respecto a los otros tratamientos. (Puerta, 2011) registró de 13,1% a 15,5% b.s. de lípidos en cinco variedades de café arábica y en el

tostado 11,5% para la variedad Colombia, 12,1% para Caturra y 12,8% para Típica.

Los ácidos grasos en el café verde contenían palmítico (39,5%), linoleico (31,5%), oleico (11,4%), esteárico (8,9%) y araquídico (4,4%), y en el café tostado se encontraron proporciones similares (Tabla 2). En otros estudios, solo el ácido linoleico disminuyó a temperaturas de tostación de 242 a 254°C (Speer & Koölling-Speer, 2001).

En otros trabajos se cuantificó 44,1% de linoleico, 33,3% de palmítico, 3,5% de araquídico, 0,6% de linolénico y menos de 1,0% de mirístico, palmitoleico, eicosenoico y behénico en café verde de arábica y robusta (Martín, Pablos, González, Valdenebro, & León-Camacho, 2001); para las variedades Borbón y Mundo Novo de Brasil, se registró en café verde 34,5% de palmítico, 39,5% de linoleico, 3,1% de araquídico, entre otros ácidos grasos (Figueiredo *et al.*, 2015).

En café arábica de Colombia se encontraron valores de 11,1% a 16,9% (b.s.) de lípidos conformados por linoleico 39,0%, palmítico 37,0%, oleico 8,7%, esteárico 8,1%, araquídico 3,2%, linolénico 1,4% y behénico 0,8% (Villarreal, Baena, & Posada, 2012).

Proteína. La proteína cruda conformó el 12,7% en promedio en el café verde y el 15,7% en el tostado (Tabla 2). Puerta (2011) cuantificó de 13,9% a 14,8% de sustancias proteicas en las variedades Típica, Caturra, Borbón y Colombia en estado verde y de 13,8% a 14,0% en el tostado. De otra parte, en el endospermo del café se estimó un contenido de 50% de proteínas de almacenamiento que representaban del 5,0% al 7,0% b.s. del peso del grano (Rogers, Bezar, Deshayes, Petiard, & Marraccini, 1997) y en otros trabajos se registró 9,8% de proteína y 0,5% de aminoácidos en

Tabla 2. Composición química café arábica verde y tostado, procesado por fermentación sumergida.

Compuesto químico	Unidad	Café verde					Café tostado				
		Error estándar de la media					Error estándar de la media				
		Mínimo	Máximo	Promedio			Mínimo	Máximo	Promedio		
Lípidos		9,04	9,77	9,36	0,16	10,74	14,55	13,11			0,11
Ácido araquídico		4,19	4,57	4,44	0,09	3,75	5,15	4,40			0,04
Ácido esteárico		8,51	9,23	8,94	0,17	7,57	9,89	8,86			0,06
Ácido linoleico		30,63	32,75	31,52	0,45	29,31	38,87	33,71			0,33
Ácido oleico		10,42	11,95	11,43	0,34	8,58	12,51	10,66			0,12
Ácido palmítico	%	38,83	40,13	39,45	0,28	33,94	42,28	38,35			0,26
Proteína		12,63	12,81	12,72	0,09	14,00	21,19	15,68			0,12
Cafeína		1,01	1,07	1,04	0,03	1,13	1,37	1,28			0,01
Trigonelina		0,88	0,92	0,90	0,02	0,49	0,98	0,82			0,01
Sacarosa		4,47	4,88	4,69	0,08	0,00	0,36	0,12			0,01
Glucosa		nd	nd	nd	nd	0,00	4,02	0,24			0,06
Fructosa		0,61	0,81	0,71	0,05	0,35	4,91	1,17			0,07
Ácido acético		nd	nd	nd	nd	2,35	5,90	4,37			0,08
Ácido cítrico		8,34	8,71	8,53	0,19	5,05	8,76	6,88			0,11
Ácido fórmico		0,00	0,53	0,27	0,27	2,98	11,90	7,36			0,21
Ácido láctico		nd	nd	nd	nd	0,00	0,52	0,11			0,02
Ácido málico		3,77	5,14	4,45	0,68	0,68	6,32	2,89			0,17
Ácido oxálico		0,06	0,12	0,09	0,03	0,08	0,14	0,10			0,00
Ácido succínico (y/o glicólico)	g kg ⁻¹	0,58	0,85	0,71	0,13	1,47	9,40	4,87			0,20
Ácido tartárico		nd	nd	nd	nd	0,00	0,05	0,001			0,001
Ácido quínico		3,45	4,48	3,97	0,51	5,33	16,61	10,01			0,31

nd: no detectado.

Tabla 3. Valores medios del tiempo, color y pérdida de masa del café en relación con la temperatura final de tostación.

Temperatura final de tostación (°C)	Tiempo de tostación (min)		Color del café tostado, Agtron, SCA		Pérdida de masa en la tostación (%)	
	Promedio	Error estándar de la media	Promedio	Error estándar de la media	Promedio	Error estándar de la media
175	9,8	0,2	62	1,5	16,0	0,3
180	10,7	0,3	61	1,7	16,2	0,3
185	11,8	0,5	55	1,8	17,0	0,4

café verde y 7,5% de proteína en café tostado de arábica (Illy & Viani, 2005).

En esta investigación se cuantificó un mayor contenido de proteínas (17,4%) para el tratamiento a 200-180°C que se diferenció de los tratamientos de temperatura final de 175°C (promedio 15,0%) y de 185-180 y 190-180°C (promedios de 15,3%). Bonnländer *et al.* (2005) explicaron que en la tostación del café toda la proteína del café verde se transforma en varios isómeros y aminoácidos libres, y aunque la cantidad total de proteínas es similar en el verde y tostado, se pierde mayor cantidad de compuestos amino en las tostaciones oscuras.

Alcaloides. La cafeína en el café verde varió entre 1,01% y 1,07% en promedio y en el tostado de 1,13% a 1,37%. Puerta (2011) cuantificó de 1,13% a 1,20% b.s. en café verde arábica y de 1,27% a 1,39% b.s. en tostado. La cafeína no varió significativamente con las temperaturas de tostación. La trigonelina en el café verde constituyó el 0,9% y en el tostado disminuyó hasta 0,8%. Se observó efecto significativo de la temperatura final en el contenido de trigonelina del café tostado. Los tratamientos con temperaturas finales de 185 y 180°C presentaron valores inferiores de trigonelina. Se hallaron trazas de teobromina en el tostado (promedio 0,05 y máximo de 0,075 g kg⁻¹).

Bicho *et al.* (2011) tostaron café de Brasil e India por 7, 9 y 11 minutos a 220°C y dedujeron que la cafeína era estable durante la tostación, cuantificaron en arábica de 1,23% a 1,38% y en robusta de 2,16% a 2,33%; por el contrario, la trigonelina disminuyó con el grado de torrefacción, en arábica de 1,29% a 0,55% y en robusta de 0,90% a 0,57%. En la tostación del café, a partir de la trigonelina se forman varios compuestos volátiles como piridina, pirroles y ácidos como el nicotínico (Homma, 2001; Stennert & Maier, 1994). Mehari *et al.* (2016) detectaron trigonelina, teobromina y cafeína en café arábica de diferentes variedades etíopes, la teobromina no se halló en cafés de la variedad Harar.

Azúcares. La sacarosa del café verde en promedio de 4,7% (5,2% b.s.) disminuyó en el tostado a un valor medio observado de 0,4% en los tratamientos a 185°C de temperatura final. Silwar y Lüllman (1988) citados por Bradbury (2001) encontraron de 6,3 a 8,5% de sacarosa en café arábica de 13 países. La sacarosa constituyó del 5,1 a 9,4% b.s. en café verde arábica y 4,0 a 7,0% en robusta (Ledl & Schleicher, 1990) y en café de Brasil 9,7% b.s. (Borém *et al.*, 2016).

En el café verde se determinó 0,7g kg⁻¹ de fructosa y no se detectó glucosa, mientras que en el café tostado si se cuantificaron glucosa

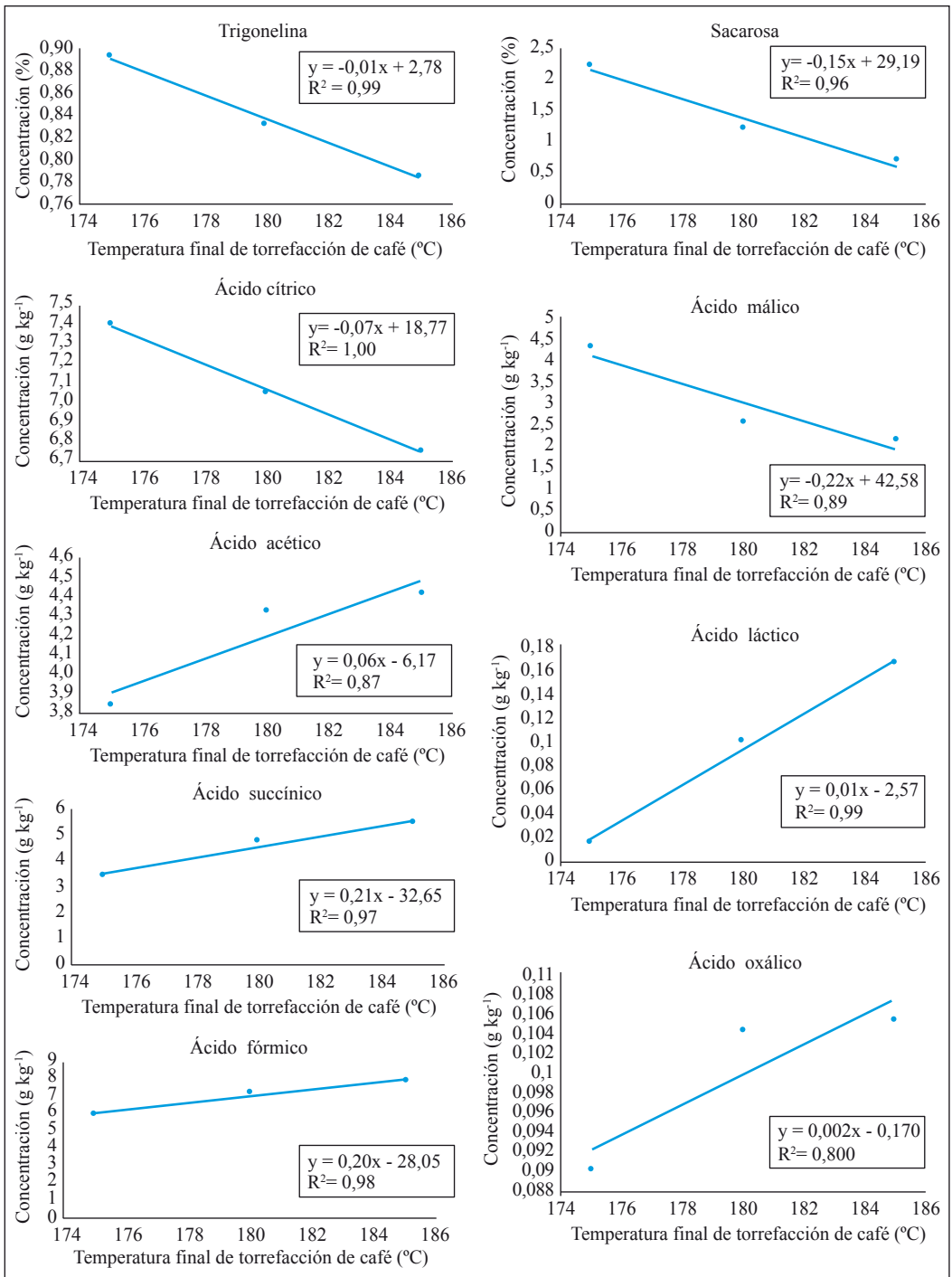


Figura 1. Relaciones entre las concentraciones de compuestos químicos del café tostado y la temperatura final de tostación, intervalo de confianza 95%.

y fructosa como productos de la hidrólisis de los carbohidratos por el efecto del calor.

La reacción de Maillard ocurre entre azúcares reductores y compuestos nitrogenados reactivos (aminoácidos, grupos amino libres en proteínas y péptidos) (Illy & Viani, 2005; Ledl & Schleicher, 1990). En la tostación la sacarosa del café verde se hidroliza y carameliza y se generan pigmentos, compuestos volátiles y varios ácidos (Bähre y Maier, 1996, 1999; Bähre, 1997, citado por Balzer, 2001; Illy & Viani, 2005).

Se observaron efectos significativos de las temperaturas inicial y final y de los tratamientos de tostación en el contenido de sacarosa del café tostado y una relación directa con la temperatura inicial e inversa con la temperatura final. En el tratamiento 195-175°C se halló el mayor contenido medio de sacarosa (3,55%) y los menores se hallaron para tratamientos con temperaturas finales de 185° e iniciales de 185 y 190°C.

Ácido quínico. En el verde varió de 3,5 a 4,5 g kg⁻¹ y en el tostado de 5,3 a 16,6 g kg⁻¹. Estos resultados se comparan con publicaciones en verde de 3,3 a 6,1 g kg⁻¹ en café arábica y de 8,9 a 15,0 g kg⁻¹ en café tostado comercial (Van der Stegen & Van Duijn, 1987). En café verde de Colombia 5,5 (Kampmann & Maier, 1982) y 6,9 g kg⁻¹ (Weers, Balzer, Bradbury, & Vitzthum, 1995) y en tostado 8,8 a 10,0 g kg⁻¹ (Weers *et al.*, 1995).

El ácido quínico da notas amargas y ácidas a la bebida y aumentó significativamente en el café tostado a 210-180°C (15,6 g kg⁻¹). Se ha demostrado que por el efecto de la temperatura en la torrefacción del café se forman varios ácidos fenólicos y lactonas (Bennat *et al.*, 1994; Clifford, 2006; Leloup, Louvrier & Liardon, 1995). Scholz & Maier (1991) determinaron isómeros de ácido quínico,

quinidas y lactonas en café arábica tostado a 240°C, por 10 minutos; el ácido quínico se incrementó desde el inicio de la tostación del café y a altos grados permaneció constante, aunque los isómeros aumentaron.

Ácidos carboxílicos alifáticos. El café verde estuvo conformado en promedio por 14,1 g kg⁻¹ (16,0 g kg⁻¹ en b.s.) de los ácidos cítrico, málico, fórmico y succínico y no se detectó láctico, acético, ni tartárico, (Tabla 2). En otros estudios se cuantificaron ácidos en café, así: 13,2 g kg⁻¹ (b.s.) de cítrico, 5,0 g kg⁻¹ de málico y menos de 0,9 g kg⁻¹ de láctico, acético y oxálico (Borém, Figueiredo, Ribeiro, Taveira, Giomo & Salva, 2016). En café verde arábica se registraron 12,0 g kg⁻¹ de cítrico y 6,0 g kg⁻¹ de málico (Kampmann & Maier, 1982; Scholz & Maier, 1991) y de 5,0 a 15,0 g kg⁻¹ de cítrico, 3,0 a 7,0 g kg⁻¹ de málico, 1,5 g kg⁻¹ de succínico, 1,4 g kg⁻¹ de fórmico y trazas de acético (Van der Stegen & Van Duijn, 1987).

En el café tostado el contenido de ácidos alifáticos varió entre 20,0 y 33,0 g kg⁻¹ (promedio 27,0 g kg⁻¹) que dependió de las temperaturas de torrefacción. Se observó un incremento del ácido cítrico con la elevación de la temperatura inicial y una reducción significativa de 17,6% en el tostado a las temperaturas de 175 y 180°C y de 24,5% a 185°C con respecto al verde. El tratamiento 210-180°C con 8,3 g kg⁻¹ de cítrico se diferenció de los tratamientos con temperatura inicial de 185°C y de los tratamientos 195-180°C, 195-185°C, 190-185°C.

El ácido málico aumentó moderadamente con el incremento de la temperatura inicial y se redujo significativamente con respecto al verde un 45,3% en los tratamientos con temperatura final de 175°C, 11,4% a 180°C y 30,8% a 185°C. Para una pérdida de materia orgánica de 6,4%, disminuyeron los ácidos

cítrico (13,1 g kg⁻¹) y málico (4,0 g kg⁻¹) en el café verde a 6,3 g kg⁻¹ y 2,0 g kg⁻¹ en el café tostado (Weers *et al.*, 1995).

La concentración de ácido acético del café tostado disminuyó en relación lineal inversa con la temperatura inicial de tostación (Figura 2) y estadísticamente se diferenciaron las medias en tres grupos: 185°C (4,80 g kg⁻¹), 190 a 200°C (4,38 g kg⁻¹) y 210°C (3,12 g kg⁻¹).

El ácido acético se formó en la tostación y alcanzó un promedio de 4,4 g kg⁻¹ en café tostado a 180 y 185°C temperatura final, diferente al valor de 3,85 g kg⁻¹ a 175°C. Los mayores contenidos de acético (5,1 g kg⁻¹) se hallaron en 185-185°C y 190-185°C de tostación. En otros estudios el acético también se incrementó a 4,9 g kg⁻¹ para 6,4% de pérdida de materia orgánica (Weers *et al.*, 1995). Michael Ginz *et al.* (2000) observaron un incremento del acético en robusta hasta 2,4 g kg⁻¹ a 240°C de temperatura final, seguido de un decremento hasta 0,5 g kg⁻¹ a los 280°C.

Igualmente, el ácido láctico se produjo en la tostación del café y el mayor valor (0,28 g kg⁻¹) se presentó en el tratamiento 190-185°C, con efecto significativo de la temperatura final. Weers *et al.* (1995) tampoco detectaron

ácido láctico en el café verde y en el tostado encontraron de 0,7 a 1,3 g kg⁻¹ según el grado de tostación; por su parte Michael Ginz *et al.* (2000) detectaron ácido láctico desde los 200°C y a 280°C, con una concentración de 0,8 g kg⁻¹.

Para tostaciones de café entre 11,6% y 17,8% de pérdida en masa disminuyeron los ácidos: cítrico de 8,7 a 5,5 g kg⁻¹ y málico de 3,9 a 2,4 g kg⁻¹ en el café tostado; el ácido láctico aumentó de 0,8 a 3,2 g kg⁻¹; el acético de 1,1 g kg⁻¹ a la pérdida inicial aumentó de 3,1 g kg⁻¹ a 15,0 g kg⁻¹ y luego disminuyó de 2,2 g kg⁻¹ a 17,8% de pérdida de masa (Blanc, 1977).

El ácido succínico del café tostado a 175°C presentó un valor cinco veces superior al contenido en el café verde y aumentó a un promedio de 6,0 g kg⁻¹ en los tratamientos a 185°C temperatura final. Weers *et al.* (1995) no detectaron ácido succínico, ni glicólico en el café verde, mientras que en el tostado hallaron entre 0,2 y 0,4 g kg⁻¹ de succínico y de 1,3 a 2,0 g kg⁻¹ de glicólico, según el grado de tostación. Por su parte, Michael Ginz *et al.* (2000) cuantificaron 0,4 g kg⁻¹ a 220°C y 0,5 g kg⁻¹ a 280°C de ácido glicólico en el café tostado.

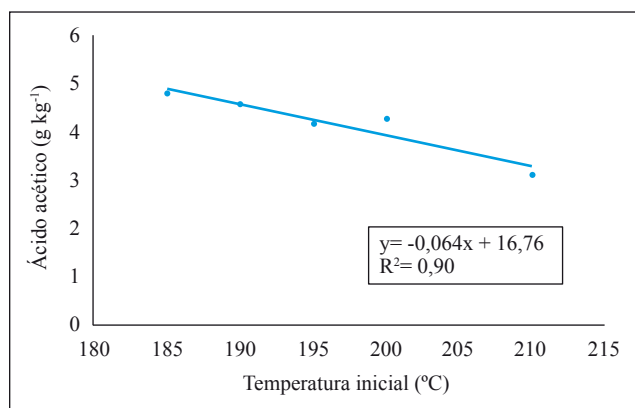


Figura 2. Relación entre la concentración de ácido acético del café tostado con la temperatura inicial de tostación, intervalo de confianza 95%.

El ácido fórmico disminuyó al incrementarse la temperatura inicial y en los tratamientos con temperatura final de 175°C alcanzó un valor 25 veces superior al café verde y aumentó a 9,0 g kg⁻¹ de forma significativa con la elevación de la temperatura final de tostación. Por el contrario, Weers *et al.* (1995) no detectaron ácido fórmico en el café verde, aunque observaron un incremento en la tostación media y luego disminución para tostaciones altas. (Michael Ginz *et al.*, 2000) midieron un valor máximo de 2,0 g kg⁻¹ de fórmico a 240°C y 0,5 g kg⁻¹ en la tostación de 280°C.

Solo se detectaron trazas de ácido tartárico en el café tostado. El ácido oxálico se incrementó entre un 11% y 22% con respecto al café verde en los tratamientos con temperatura final de tostación de 180°C y 185°C. En café de Brasil, se cuantificó ácido oxálico en menor concentración en las muestras que tuvieron mayores puntajes de calidad en taza (Borém *et al.*, 2016). Lentner & Deatherage (1959) no detectaron ácidos tartárico ni oxálico en el café tostado.

Puede concluirse que, al aumentar la temperatura inicial de tostación del café, los contenidos de lípidos y ácido acético disminuyen, por el contrario, las concentraciones de los ácidos quínico y cítrico aumentan. Con el incremento de la temperatura final de torrefacción del café decrecen las concentraciones de sacarosa, trigonelina y de los ácidos cítrico y málico, en contraste, se incrementan los contenidos de ácidos acético, láctico, succínico, fórmico y oxálico. Al mismo tiempo, es mayor el tiempo de tostación y la transferencia o pérdida de masa, de igual forma el color del grano se vuelve más oscuro.

Las relaciones entre las concentraciones de los compuestos químicos del café respecto a las temperaturas de torrefacción presentadas

en esta investigación pueden contribuir a la obtención de consistencia en la composición química y calidad del café, mediante la fijación de las temperaturas de tostación.

AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Estación Naranjal y del laboratorio de Calidad de Cenicafé. Estos resultados son parte de las investigaciones del proyecto CAL106002 “Relaciones entre los procesos termoquímicos de la tostación y la calidad de cafés especiales” que se financió con recursos de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

LITERATURA CITADA

- Balzer, H. H. (2001). Chemistry I: Non-Volatile Compounds: Acids in Coffee. En R.J. Clarke & O.G. Vitzthum (Eds.), *Coffee: Recent developments* (pp. 18-32). <https://doi.org/10.1002/9780470690499.ch1b>
- Bennat, C., Engelhardt, U. H., Kiehne, A., Wirries, F.-M., & Maier, H. G. (1994). HPLC analysis of chlorogenic acid lactones in roasted coffee. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 199(1), 17-21.
- Bicho, N. C., Leitao, A. E., Ramalho, J. C., & Lidon, F. C. (2011). Identification of chemical clusters discriminators of the roast degree in Arabica and Robusta coffee beans. *European Food Research and Technology*, 233(2), 303-311.
- Blanc, M. B. (1977). Les acides carboxyliques du café: Mise au point et résultats de différentes déterminations. *ASIC 1977: 8th International Scientific Colloquium on Coffee*, 73-78. Abidjan, Costa de Marfil.
- Bonnländer, B., Eggert, R., Engelhardt, U. H., & Maier, H. G. (2005). Roasting. En A. Illy & R. Viani (Eds.), *Espresso coffee: The science of quality* (pp.179-214). Academic Press.
- Borém, F. M., Figueiredo, L. P., Ribeiro, F. C., Taveira, J. H., Giomo, G. S., & Salva, T. (2016). The relationship between organic acids, sucrose and the quality of specialty coffees. *African Journal of Agricultural Research*, 11(8), 709-717.

- Bradbury, A. G. W. (2001). Chemistry I: Non-Volatile Compounds: Carbohydrates. En R.J. Clarke & O.G. Vitzthum (Eds.), *Coffee: Recent developments* (pp. 1-17). <https://doi.org/10.1002/9780470690499.ch1a>
- Chung, H.-S., Kim, D.-H., Youn, K.-S., Lee, J.-B., & Moon, K.-D. (2013). Optimization of roasting conditions according to antioxidant activity and sensory quality of coffee brews. *Food Science and Biotechnology*, 22(1), 23-29.
- Clifford, M. N. (2006). Chlorogenic Acids: Their Characterisation, Transformation during Roasting, and Potential Dietary Significance. *ASIC 2006: 21th International Scientific Colloquium on Coffee*, 36-49. Montpellier, Francia.
- Clifford, M. N., & Kazi, T. (1987). The influence of coffee bean maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline. *Food Chemistry*, 26(1), 59-69.
- Deshpande, S. N., & Aguilar, A. A. (1975). Effects of roasting temperatures and gamma irradiation on the content of chlorogenic acid, caffeic acid and soluble carbohydrates of coffee. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 26(11), 656-661. [https://doi.org/10.1016/0020-708X\(75\)90021-6](https://doi.org/10.1016/0020-708X(75)90021-6)
- Eggers, R., Von Blittersdorf, M., Fischer, C., & Cammenga, H. K. (2004). Temperature Field During Roasting and Cooling of Coffee Beans. *ASIC 2004: 20th International Scientific Colloquium on Coffee*, 69. Bangalore, India.
- Farah, A., Monteiro, M. C., Calado, V., Franca, A. S., & Trugo, L. C. (2006). Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, 98(2), 373-380. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.032>
- Figueiredo, L. P., Borem, F. M., Ribeiro, F. C., Giomo, G. S., da Silva Taveira, J. H., & Malta, M. R. (2015). Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. *African journal of agricultural research*, 10(35), 3484-3493.
- Flament, I. (2001). *Coffee flavor chemistry*. New York: John Wiley & Sons.
- Franca, A. S., Oliveira, L.S., Oliveira, R.C.S., Mancha A., P.M., & Augusti, R. (2009). A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. *Journal of Food Engineering*, 92(3), 345-352.
- Ginz, M., & Engelhardt, U. H. (2001). Analysis of bitter fractions of roasted coffee by LC-ESI-MS -new chlorogenic acid derivatives; Proceedings. *ASIC 2001: 19th International Scientific Colloquium on Coffee*, 5. Trieste, Italia.
- Ginz, M., Balzer, H. H., Bradbury, A. G., & Maier, H. G. (2000). Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. *European Food Research and Technology*, 211(6), 404-410.
- Gloess, A. N., Vietri, A., Wieland, F., Smrke, S., Schönbacher, B., López, J. A. S., ... Yeretzyan, C. (2014). Evidence of different flavour formation dynamics by roasting coffee from different origins: On-line analysis with PTR-ToF-MS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 365-366, 324-337. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2014.02.010>
- Gretsch, C., Sarrazin, C., & Liardon, R. (1999). Evolution of coffee aroma characteristics during roasting. *ASIC 1999: 18th International Scientific Colloquium on Coffee*, 27-34. Helsinki, Finlandia.
- Holscher, W., Vitzthum, O. G., & Steinhart, H. (1990). Identification and sensorial evaluation of aroma-impact-compounds in roasted Colombian coffee. *Cafe-cacao-the*, 34(3), 205-212.
- Homma, S. (2001). Chemistry II: Non-Volatile Compounds, Part II. En R.J. Clarke & O.G. Vitzthum (Eds.), *Coffee: Recent developments* (pp. 50-67). <https://doi.org/10.1002/9780470690499.ch2>
- Illy, A., & Viani, R. (2005). *Espresso coffee: The science of quality*. Academic Press.
- Kampmann, B., & Maier, H. G. (1982). Säuren des Kaffees. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 175(5), 333-336.
- Ky, C.-L., Louarn, J., Dussert, S., Guyot, B., Hamon, S., & Noiro, M. (2001). Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food chemistry*, 75(2), 223-230.
- Ledl, F., & Schleicher, E. (1990). New Aspects of the Maillard Reaction in Foods and in the Human Body. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 29(6), 565-594. <https://doi.org/10.1002/anie.199005653>
- Leloup, V., Louvrier, A., & Liardon, R. (1995). Degradation mechanisms of chlorogenic acids during roasting. *ASIC 1995: 16th International Scientific Colloquium on Coffee*, Kyoto, 192-198. Kyoto, Japan).
- Clifford, M. N. (2006). Chlorogenic Acids: Their Characterisation, Transformation during Roasting, and Potential Dietary Significance. *ASIC 2006: 21th*

- International Scientific Colloquium on Coffee, 36-49. Montpellier, Francia.
- Lentner, C., & Deatherage, F. E. (1959). Organic acids in coffee in relation to the degree of roast. *Journal of Food Science*, 24(5), 483-492. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1959.tb17299.x>
- Ludwig, E., Raczek, N. N., & Kurzrock, T. (1995). Contribution to composition and reactivity of coffee protein. *ASIC 1995: 16th International Scientific Colloquium on Coffee*, 359-365. Kyoto, Japón.
- Lyman, D. J., Benck, R., Dell, S., Merle, S., & Murray-Wijelath, J. (2003). FTIR-ATR analysis of brewed coffee: Effect of roasting conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(11), 3268-3272.
- Marín, C., & Puerta, G. I. (2008). Contenido de ácidos clorogénicos en granos de coffee arabica lyc canephora según el desarrollo del fruto. *Revista Cenicafé*, 59(1), 7-28.
- Martín, M. J., Pablos, F., González, A. G., Valdenebro, M. S., & León-Camacho, M. (2001). Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation. *Talanta*, 54(2), 291-297. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00647-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00647-0)
- Mehari, B., Redi-Abshiro, M., Chandravanshi, B. S., Atlabachew, M., Combrinck, S., & McCrindle, R. (2016). Simultaneous determination of alkaloids in green coffee beans from Ethiopia: Chemometric evaluation of geographical origin. *Food analytical methods*, 9(6), 1627-1637.
- Munari, M., Mastrocola, D., Nicoli, M. C., & Severini, C. (1997). Cinetiche di formazione delle sostanze volatili durante la tostatura del caffè. *Industria Alimentari*, 36(358), 454-459.
- Nakabayashi, T., & Kojima, Y. (1980). Changes in the Quinic Acid Contents of Coffee Beans in the Process of Roasting. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 27(3), 108-111.
- Ortolá, M. D., Londoño, L., Gutiérrez, C. L., & Chiralt, A. (1998). Influence of roasting temperature on physicochemical properties of different coffees. *Food science and technology international*, 4(1), 59-66.
- Puerta, G. I. (1998). Calidad en taza de las variedades de *Coffea arabica* L cultivadas en Colombia. *Revista Cenicafé*, 49(4), 265-278.
- Puerta, G. I. (2000). Calidad en taza de algunas mezclas de variedades de café de la especie *Coffea arabica* L. *Revista Cenicafé*, 51(1), 5-19.
- Puerta, G. I. (2011). Composición química de una taza de café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 414, 1-12.
- Puerta, G. I. (2012). Factores, procesos y controles en la fermentación del café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 422, 1-12. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/327>
- Puerta, G. I. (2014). Development of controlled fermentation processes to add value to coffee quality. *ASIC 2014: 25th International Scientific Colloquium on Coffee*, 42-45. Armenia, Colombia.
- Puerta, G. I., & Echeverry, J. G. (2015). Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad. *Avances Técnicos Cenicafé*, 454, 1-12.
- Rogers, W. J., Bezard, G., Deshayes, A., Petiard, V., & Marraccini, P. (1997). An 11S-type storage protein from *Coffea arabica* L. endosperm: Biochemical characterization, promoter function and expression during grain maturation. *ASIC 1997: 17th International Scientific Colloquium on Coffee*, 220-229. Nairobi, Kenya.
- Scholz, B. M., & Maier, H. G. (1991). Isomers of quinic acid and quinides in roasted coffee: ¿indicators for the degree of roast? *ASIC 1991: 14th International Scientific Colloquium on Coffee*, 220-229. San Francisco, Estados Unidos.
- Speer, K., & Koölling-Speer, I. (2001). Chemistry I: Non-Volatile Compounds: Lipids. En R.J. Clarke & O.G. Vitzthum (Eds.), *Coffee: Recent developments* (pp. 33-49). <https://doi.org/10.1002/9780470690499.ch1c>
- Speer, K., Sehat, N., & Montag, A. (1993). Fatty acids in coffee. *ASIC 1993: 15th International Scientific Colloquium on Coffee*, 583-592. Montpellier, Francia.
- Stennert, A., & Maier, H. G. (1994). Trigonelline in coffee. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 199(3), 198-200.
- Van der Stegen, G. H. D., & Van Duijn, J. (1987). Analysis of normal organic acids coffee. *ASIC 1987: 12th International Scientific Colloquium on Coffee*, 238-246. Montreux, Suiza.
- Villarreal, D., Baena, L. M., & Posada, H. E. (2012). Análisis de lípidos y ácidos grasos en café verde de líneas avanzadas de *Coffea arabica* cultivadas en Colombia. *Revista Cenicafé*, 63(1), 19-40.
- Weers, M., Balzer, H., Bradbury, A., & Vitzthum, O. G. (1995). Analysis of acids in coffee by capillary electrophoresis. *ASIC 1995: 16th International Scientific Colloquium on Coffee*, Kyoto, 218-223. Kyoto, Japan).

USO POTENCIAL DE *Hermetia illucens* (LINNAEUS) (DIPTERA: STRATIOMIDAE) PARA TRANSFORMACIÓN DE PULPA DE CAFÉ: ASPECTOS BIOLÓGICOS

Marisol Giraldo Jaramillo*, Nelson Rodríguez Valencia**, Pablo Benavides Machado*

GIRALDO J., M.; RODRÍGUEZ V., N; BENAVIDES M., P. Uso potencial de *Hermetia illucens* (Linnaeus) (Diptera: Stratiomidae) para transformación de pulpa de café: Aspectos biológicos. Revista Cenicafé 70(2):81-90. 2019

La conversión de materia orgánica con el uso de organismos ha tenido un amplio desarrollo en las últimas décadas. La mosca soldado negra *Hermetia illucens*, por contener proteínas y grasas, se ha considerado como alimento para animales. El objetivo de la presente investigación fue determinar el desarrollo de *H. illucens* en pulpa de café bajo condiciones controladas y realizar la descripción morfológica de sus estados biológicos. El trabajo se desarrolló a una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $80\%\pm 10\%$ y fotoperíodo 12:12. Se realizó seguimiento diario para obtener las variables: longevidad y sobrevivencia (%) de cada uno de los estados biológicos, incluyendo los adultos machos y hembras y razón sexual. Se obtuvo el ciclo completo de *H. illucens* en pulpa de café. Los análisis descriptivos de las variables mostraron una duración en días del período de incubación de $3,06\pm 0,09$, la fase larval de $22,83\pm 0,17$ y la pupa de $19,92\pm 0,17$, con una viabilidad total (huevo-adulto) de 80% y una longevidad de los adultos hembras y machos de $10,43\pm 0,48$. Se describieron los estados biológicos de huevo, larva, pupa y adultos. Los resultados de esta investigación soportan apuestas futuras de proyectos de desarrollo tecnológico que permitan la cría de la mosca *H. illucens* para alimentación animal y el uso de los subproductos en fertilización de cultivos orgánicos.

Palabras clave: Mosca soldado negra, conversión materia orgánica, proteína animal, residuos orgánicos.

POTENTIAL USE OF *Hermetia illucens* (LINNAEUS) (DIPTERA: STRATIOMIDAE) FOR THE TRANSFORMATION OF COFFEE PULP: BIOLOGICAL ASPECTS

The conversion of organic matter using organisms has had a remarkable development in the last decades. The black soldier fly *Hermetia illucens* is considered for animal nutrition due to its protein and fat contents. The objective of this research was to determine the development of *H. illucens* on coffee pulp under controlled conditions and to describe the morphology of its life stages. This study was carried out at a temperature of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 80%±10% of relative humidity and a 12h:12h photoperiod. A daily follow up was performed to the insects in order to obtain the variables: longevity and survival (%) for each biological stage, including adult males and females, and the estimation of its sexual rate. The entire life cycle of *H. illucens* was accomplished on coffee pulp. The descriptive analyses of the variables showed an average duration in days of 3.06 ± 0.09 for egg incubation, 22.83 ± 0.17 for the larval stage, 19.92 ± 0.17 for pupae, with a total viability (adult egg) of 80% and 10.43 ± 0.48 adult longevity (male and female). All life stages eggs, larvae, pupae and adults were described. The results of this research support future research on development technology projects to rear *H. illucens* for animal nutrition and the use of its subproducts in fertilization of organic farming.

Keywords: Black soldier fly, organic matter conversion, animal protein, organic waste.

*Investigador Científico I e Investigador Científico III, respectivamente. Disciplina de Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

**Investigador Científico III. Disciplina de Poscosecha, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

Con una proyección de la población mundial de 9.700 millones de personas para el año 2050 (UN, 2015), se espera un aumento en la demanda por alimentos, generando impactos negativos en el ambiente por la intensificación de la producción agropecuaria y la mayor producción de residuos orgánicos (Rehman *et al.*, 2017). El manejo inadecuado de los mismos generaría productos perjudiciales para el ambiente (Aguirre-Villegas y Larson, 2017).

La conversión de materia orgánica usando organismos ha tenido un amplio desarrollo en las últimas décadas (Aguirre-Villegas y Larson, 2017; Diener *et al.*, 2011); los ejemplos más relevantes son el uso de lombrices y microorganismos en la producción de abono orgánico rico en nutrientes para usos agrícolas (Rendón *et al.*, 2015). Así, el empleo de insectos ha tomado importancia ya que ayuda en la conversión de residuos en la producción agropecuaria y proveen proteína para la alimentación de animales de corral (aves, cerdos y peces) (Barragan-Fonseca *et al.*, 2017) y a futuro para humanos (Wang y Shelomi, 2017).

La mosca soldado negro *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758), es un insecto perteneciente a la familia Stratiomidae del orden Diptera, originaria de América (Triplehorn y Johnson, 2005). Los adultos viven, se aparean y ponen sus huevos en grietas y hendiduras cerca del hábitat de las larvas y pueden alimentarse de estiércol, carne en descomposición o frutas y vegetales (Gobbi *et al.*, 2013). Este insecto se considera benéfico en las instalaciones de animales (aves de corral, porcinos), por su hábito de colonizar residuos animales (Sheppard *et al.*, 1983), ayudando a reducir la presencia de la mosca casera *Musca domestica* y atenuando hasta en 50% la masa acumulada de estiércol (Sheppard, 1983). Adicionalmente favorece la disminución de los niveles de *Escherichia coli* en el estiércol (Erickson *et*

al., 2004; Liu *et al.*, 2008) y las larvas pueden digerir los residuos sólidos resultantes de la producción agrícola de banano, palma de aceite y café (Hem *et al.*, 2008; Larde, 1990). Las larvas y pre-pupas poseen alrededor de 62% de proteína cruda y hasta 39% de grasa y no almacenan pesticidas o micotoxinas, por lo cual, a pesar de que se requieren más estudios nutricionales (Barragán-Fonseca *et al.*, 2017; Wang y Shelomi, 2017), se consideran una opción para alimento de aves de corral, cerdos y peces (Newton *et al.*, 1977; Sheppard *et al.*, 1994).

Diversos trabajos han sido desarrollados para determinar aspectos básicos del ciclo de vida y metodología de cría en diferentes dietas (Tingle *et al.*, 1975). Cinco días posteriores a la emergencia de los adultos se presenta la cópula, ocurriendo un período de pre-oviposición de 2 a 4 días (Tomberlin *et al.*, 2005). La hembra puede depositar un promedio de 600 huevos (Sheppard, 1983), los cuales pasan por un período de incubación de 3 a 4 días (Gobbi *et al.*, 2013). Las larvas alcanzan el estado de pupa en 14 días aproximadamente a 30°C (Furman *et al.*, 1959). Sheppard *et al.* (2002) determinaron que la duración de la fase de pupa es de 10 a 14 días en temperaturas entre 27 y 30°C; los adultos no necesitan alimentarse y el suministro de agua incrementa su longevidad (Tomberlin *et al.*, 2005).

La producción cafetera emplea el 5% (Rodríguez y Zambrano, 2010) de la biomasa total para obtener la bebida, quedando un 95% en otras estructuras de la planta. Cuando se realiza la cosecha de los frutos de café se genera la pulpa, la cual resulta de la remoción de exocarpio que representa el 44% del peso de los frutos (Montilla *et al.*, 2008). Este material puede ser usado como fertilizante (Rendón *et al.*, 2015), alimento (Franco *et al.*, 1973) y producción de biocombustibles (Rodríguez y Zambrano, 2011), pero debe ser

transformada mediante compostaje (Rendón *et al.*, 2015). Cada millón de sacos de 60 kg de café almendra, generarían 162.900 toneladas de pulpa fresca, la cual debe manejarse adecuadamente para evitar contaminación (Rodríguez y Zambrano, 2010).

Por lo anterior, es importante considerar el uso de *H. illucens* en el proceso de conversión de la pulpa de café ya que podría generar un fertilizante orgánico (Arcila y Farfán, 2007; Uribe y Salazar, 1983), mejoraría las condiciones del suelo (Suárez, 2001) y proveería larvas con un contenido proteico para complementar la alimentación de aves de corral, cerdos y peces en la caficultura colombiana.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la capacidad de desarrollo de *H. illucens* en pulpa de café como sustrato alimenticio bajo condiciones controladas, con el fin de establecer las bases para proyectos posteriores de desarrollo tecnológico en la producción de insectos para alimentación pecuaria y transformación de pulpa de café en materia orgánica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en la Disciplina de Entomología de Cenicafé, en el municipio de Manizales, departamento de Caldas, bajo condiciones controladas de cuarto de cría con temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $80\%\pm 10\%$ y fotoperíodo 12:12. Los insectos con los que se inició la cría se recolectaron sobre pulpa de café de fincas cafeteras localizadas en el municipio de San José (Caldas).

Ciclo de vida de *H. illucens*. Se evaluó en un sustrato alimenticio de pulpa de café, la cual se obtuvo en las instalaciones de Cenicafé. Inicialmente se conformaron diez parejas de machos (σ) y hembras (ω) adultas, de 12

horas de edad, las cuales se ubicaron en tres cajas acrílicas de 8 cm de alto x 11 cm de ancho y 21 cm de largo, que contenían 100 g de pulpa de café cada una y tres capas de tiras de cartón corrugado alrededor, dentro de jaulas de tul de 50 x 50 x 50 cm.

A partir de las posturas obtenidas en el papel corrugado de cartón, se seleccionaron 100 huevos. Para obtener la duración de los estados biológicos se evaluó diariamente la incubación de los huevos y posterior muda de los individuos. Al momento de la eclosión, las larvas se individualizaron en vasos plásticos de 474 mL perforados en la base, conteniendo 50 g de pulpa de café y tapados con malla tipo tul. Se suministró nuevo sustrato cada siete días con el fin de procurar alimento; posteriormente, las pupas se retiraron del sustrato y se acondicionaron sobre papel filtro humedecido, cubriéndolas con vasos de plástico de 3mL hasta obtener los adultos.

A la emergencia de los adultos, estos se separaron por sexo, observando la terminación del abdomen de acuerdo con Rozkosny (1983) y Üstüner *et al.* (2003) (Figura 1). Para determinar la longevidad de los adultos se conformaron 20 parejas de edad similar, confinándolas en las jaulas de tul descritas anteriormente, con dos cajas acrílicas con pulpa de café. Diariamente se determinó el número de machos y hembras muertos.

Variables evaluadas. Duración de cada uno de los estados biológicos de huevo, larva y pupa, sobrevivencia (%) de cada estado, longevidad de machos y hembras y razón sexual (RS), donde, $RS = (\#_{\omega}/\#_{\sigma} + \#_{\sigma})$.

Se realizó un análisis descriptivo para cada una de las variables, medidas de tendencia central y variación.

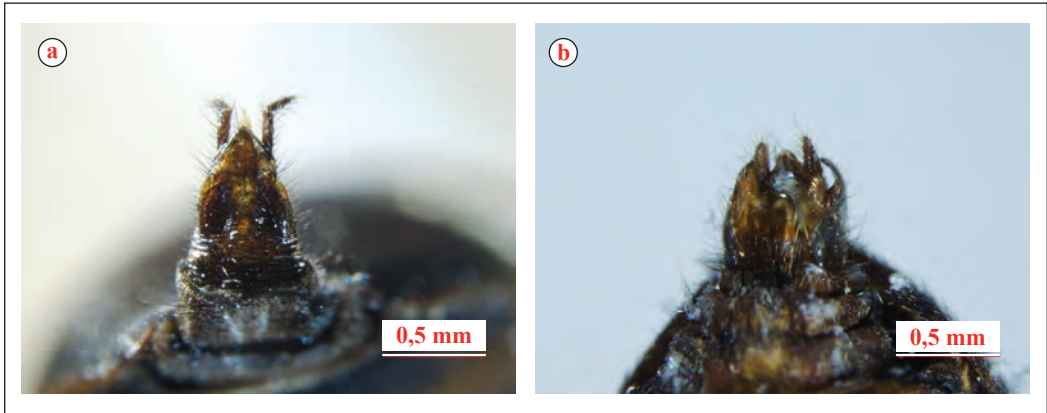


Figura 1. Vista ventral del último segmento abdominal de *Hermetia illucens* a) Hembra, b) Macho. Barra de escala: 0,5 mm. Fotografía J.C. Ortiz, 2018.

De forma complementaria se realizó la descripción morfológica general de cada uno de los estados biológicos: huevo, larva, pupa y adulto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aspectos biológicos: Ciclo de vida de *Hermetia illucens*

El método de cría que se estableció para mantener la colonia de *H. illucens* en pulpa de café permitió la cópula y oviposición. Contrario a lo reportado por otros autores, no fue necesario mantener las crías en espacios mayores a 16 m³ como lo sugieren Tingle *et al.* (1975) y Tomberlin *et al.* (2002). A pesar de que en este estudio no se contabilizaron las cópulas, el cortejo y apareamiento, el promedio de huevos por hembra y número de posturas, Booth y Sheppard (1984) y Tomberlin y Sheppard (2001) calculan una capacidad de producir entre 500 y 700 huevos por hembra en varias posturas. Los resultados obtenidos indican que la pulpa de café es un sustrato viable para la producción de *H. illucens* (Figura 2) y permite la obtención de los parámetros de vida del insecto.

Una vez obtenidos los huevos, se determinó el período de incubación de *H. illucens* en 3,06 días, con el 98% de los huevos viables (Tabla 1). La hembra oviposita sobre la pulpa de café en grupos de más de 20 huevos por postura. Estos resultados concuerdan con los reportes de Sheppard *et al.* (2002) y de Tomberlin *et al.* (2005), sobre dieta artificial de maíz.

Se determinó que en pulpa de café la duración del estado larval de *H. illucens* fue de 22,83 días (Tabla 1), resultados similares a los registrados por Tomberlin *et al.* (2002), quienes obtuvieron un promedio de 20,1±0,32 a 27°C, en dieta de harina de maíz y alfalfa, y por Gobbi *et al.* (2013), quienes reportan una duración que varía en función del alimento suministrado entre 15 a 33 días. La viabilidad de la fase larval fue del 85%. Sin embargo, se observó mortalidad de larvas cuando la pulpa de café estaba saturada de agua, situación también reportada por Sheppard *et al.* (2002) en una dieta compuesta por 50% de salvado de trigo, 30% de harina de alfalfa y 20% de harina de maíz saturada con agua. En este estudio no se evaluaron el número de instares larvales; sin embargo, varios autores reportan un total de cinco estadios larvales (Hall *et*

al., 2002; Myers *et al.*, 2008). Al finalizar la fase larval, estas abandonaron la pulpa de café saliendo de las cajas en búsqueda de sitios secos, oscuros y protegidos; en esta fase fue importante suministrar este ambiente como requisito para el desarrollo de la fase de prepupa, la cual inició al endurecerse la cutícula.

El tiempo de desarrollo de la pupa fue de 19,92 días, con una viabilidad del 95% (Tabla 1); el 5% de mortalidad ocurrió por contaminación por microorganismos. Tomberlin *et al.* (2009) reportan que esta fase dura en promedio $17,8 \pm 0,74$ días, con una viabilidad superior al 90%. No se encontraron pupas con malformaciones, lo que sugiere que el sustrato alimenticio fue adecuado y que no se afectó la tasa de crecimiento de los insectos criados (De Hass *et al.*, 2006). En consecuencia, el porcentaje de supervivencia de larva a adulto fue del 81%, valor superior al reportado por Myers *et al.* (2008), quienes obtuvieron un 37%.

Con los adultos emergidos se calculó la razón sexual (RS) de 0,55 similar a la reportada por Gobbi *et al.* (2013) cuando comparó tres tipos de dieta con fuentes proteicas diferentes.

El promedio de la longevidad de los adultos fue similar para machos y hembras en el sustrato de pulpa de café (Tabla 1). Para machos, el 50% acumulado murió entre los días 12 y 13, mientras que las hembras lo hicieron entre los 13 y 14 (Figura 3). Se obtuvieron resultados similares a los reportados por Tomberlin *et al.* (2009), quienes reportan que la duración de los adultos alimentados con dieta artificial de harina de maíz y alfalfa, a temperaturas entre 27-30°C, fluctuó entre 12,4 y 17,4 días. Myers *et al.* (2008) encontraron que la longevidad promedio estuvo entre 9,72 y 14,71 días para ambos sexos, cuando fueron alimentados con diferentes proporciones de estiércol de ganado y residuos de cosecha de maíz. Es importante

precisar que los adultos no se alimentaron, solo consumieron agua.

Las hembras presentaron un período de preoviposición de dos a tres días, este resultado fue también registrado por Tomberlin *et al.* (2002) y Sheppard *et al.* (1994) quienes mencionan que la oviposición inicia de tres a cuatro días después de la emergencia del adulto.

La duración total del ciclo desde huevo hasta adulto fue de 45,75 días, valor superior a los reportes de otros autores, quienes lo estimaron entre 38 y 43 días en diferentes sustratos alimenticios y temperaturas entre 25 a 30°C (Rehman *et al.*, 2017; Sheppard *et al.*, 2002; Tomberlin *et al.*, 2005; Tomberlin y Sheppard, 2002). Los resultados discutidos indican que la diferencia radica en la duración de las fases de larva y pupa, ya que en el sustrato de pulpa de café se tardaron casi dos días para cada una de estas fases, lo cual puede estar relacionado con el sustrato de alimentación y las condiciones de temperatura y humedad utilizadas en el presente trabajo.

Descripción de *Hermetia illucens*

Huevo. Los huevos son de forma ovoide, de $1,0 \pm 0,01$ mm de longitud, coloración variable, de blanco a amarillo claro, y textura lisa. A medida que avanza la incubación, el color de los huevos se va acentuando a amarillo claro, después de 60 horas pueden observarse los ojos (manchas rojas) y a las 72 horas se aprecia la cápsula cefálica (Figura 4a).

Larvas. Son de coloración café oscura a café claro opaco, cuando se encuentran próximas a empupar miden entre 2,7 a 3,0 cm. La cápsula cefálica es parcialmente expuesta y las mandíbulas tienen formato falciforme, la estructura general de la larva es apoda, alargada fusiforme y deprimida dorso ventralmente; el tegumento endurecido es formado por placas



Figura 2. Pulpa de café degradada y pupas de *Hermetia illucens*. Fotografía L. Quintero.

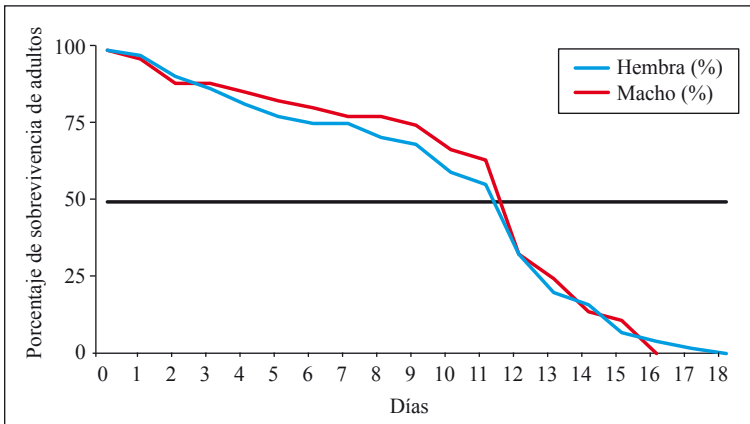


Figura 3. Porcentaje de sobrevivencia de adultos de *Hermetia illucens* de acuerdo al sexo, en pulpa de café en el laboratorio. Temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $80\%\pm 10\%$ y fotoperiodo 12:12.

Tabla 1. Duración (días \pm EE*) y viabilidad (%) de los diferentes estados biológicos de *Hermetia illucens* en pulpa de café en condiciones de laboratorio. Temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $80\%\pm 10\%$ y fotoperiodo 12:12.

Parámetro	Número de individuos (n)	Duración (días)	Viabilidad (%)
Período de incubación (días)	100	$3,06\pm 0,09$	98
Período larval	98	$22,83\pm 0,17$	85
Período pupal	84	$19,92\pm 0,17$	95
Duración total (huevo-adulto)	84	$45,75\pm 0,24$	-
Viabilidad total estados inmaduros	84	-	80
Hembras	45	$10,54\pm 0,72$	
Machos	36	$9,84\pm 0,51$	

* E.E.: Error estándar.

calcáreas, redondeadas, con segmentación visible en el extremo anterior ahusado y el posterior redondo, dividiéndose en tres regiones: cápsula cefálica (CC), tres segmentos torácicos (ST) y ocho segmentos abdominales (SA) (Figura 4b). De acuerdo con Rozkosny (1983), existe diferencia en cuanto a la quetotaxia de los segmentos torácicos y abdominales, y a medida que avanza en edad el tegumento es más esclerotizado. Presenta seis instares larvales (Tomberlin y Sheppard, 2002).

Pupas. Son formadas con la exuvia del último instar larval. Las pupas son de tipo coartada y coloración café oscura (Figura 4c y 4d).

Adulto. En general, tiene un tamaño promedio de $22,0 \pm 0,02$ mm para hembras y $16,0 \pm 0,01$ mm para machos, son negros a café claro. Los especímenes pertenecientes a la familia Stratiomyidae presentan como característica típica en las alas una celda discal redondeada y algunas ramas de la vena M, que no alcanza los márgenes del ala, la celda M_3 abierta y las venas R_5 o R_{4+5} terminan en el ápice del ala (Figura 5a). A nivel de especie, estas moscas presentan el primer segmento abdominal de coloración más clara que el resto del abdomen (Figura 5b y 5c), llamadas espejos, cuya función es desconocida (Üstüner *et al.*, 2003).

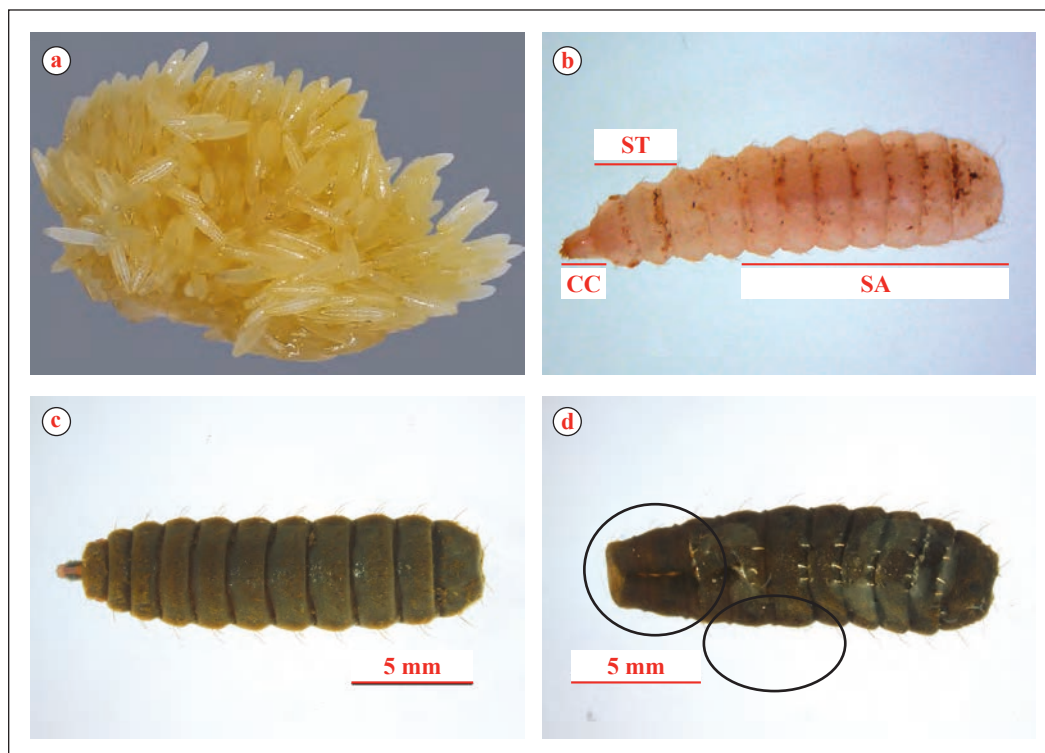


Figura 4. a). Detalle de masa de huevos; b). Detalle de larva y sus tres regiones; cc: cápsula cefálica, ST: segmentos torácicos, SA: segmentos abdominales; c). Pupa; d) Detalle de la exuvia pupal con orificio de salida del adulto de *Hermetia illucens*. Barra de escala: A: 1 mm, b, c y d: 5 mm. Fotografías: a). L. Barros y L. Rossi; b, c, d) J.C. Ortiz. La escala es 5 mm. Fotografía J. C Ortiz, 2019.

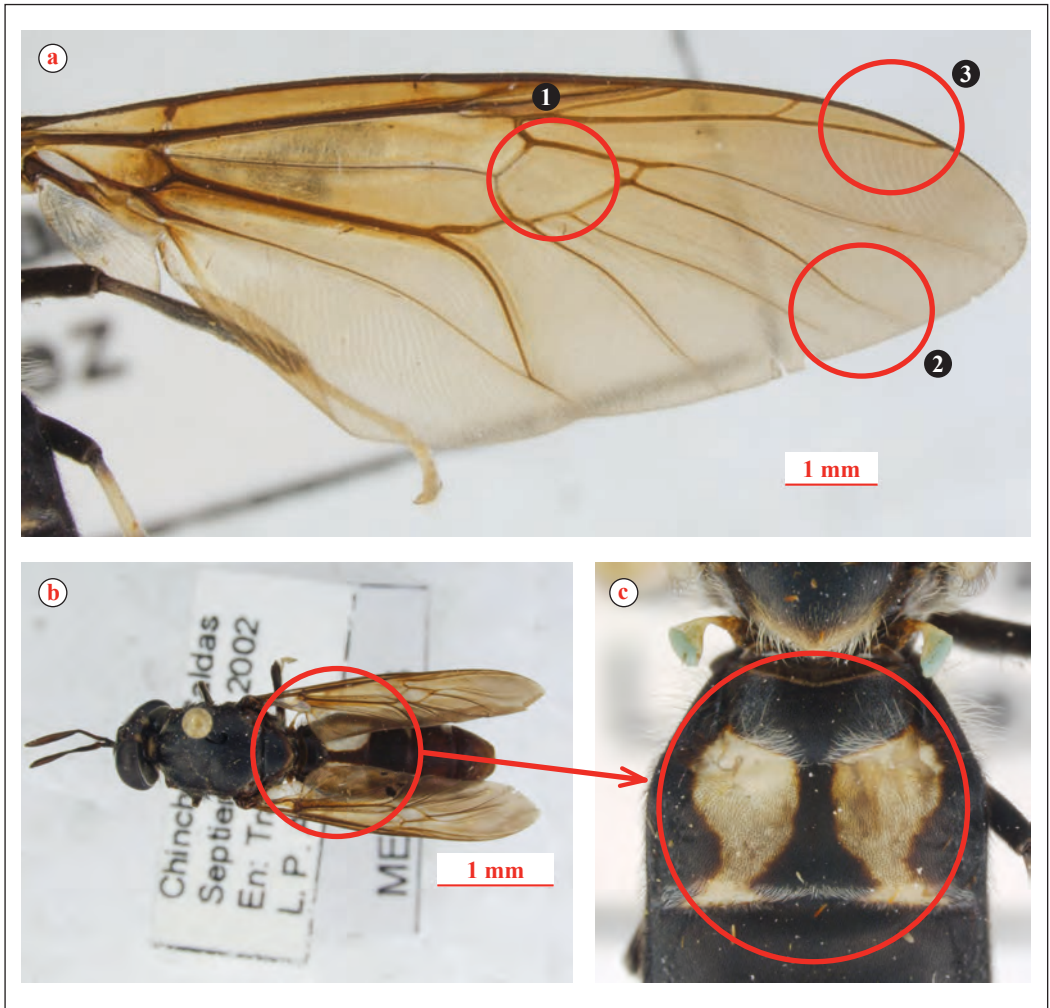


Figura 5. Adultos de *Hermetia illucens*. a) Ala, 1. Celda discal redondeada, 2. Algunas ramas de la vena M: M₁ y M₂, 3. Vena R₄₊₅; b) Detalle del cuerpo vista dorsal (♀); c) Abdomen con detalle de los espejos (♂). Barra de escala: 1 mm. Fotografía J. C Ortiz, 2019.

Puede concluirse que *H. illucens* se desarrolló sobre el sustrato alimenticio de pulpa de café, abriendo la posibilidad para establecer las bases para proyectos de desarrollo tecnológico en la producción de insectos para alimentación pecuaria y transformación de pulpa de café en materia orgánica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a ingeniera química Laura Quintero; a los doctores Laura Barros y Leo Rossi, y al señor Juan Carlos Ortiz por las imágenes fotográficas; al señor Samuel Castañeda por el apoyo con la

pulpa de café. Esta investigación fue realizada con recursos de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Villegas, H.A., & Larson, R.A. (2017). Evaluating greenhouse gas emissions from dairy manure management practices using survey data and lifecycle tools. *Journal of cleaner production*, 143, 169-179.
- Arcila, J., & Farfán, F.F. (2007). Consideraciones sobre la nutrición mineral y orgánica en la producción de la finca. En: J. Arcila, F.F. Farfán., A. Moreno., L.F. Salazar., & E. Hincapié (Eds.), *Sistemas de producción de café en Colombia* (pp.201-232). Manizales: Cenicafé.
- Barragán-Fonseca, K.B., Dicke, M., & Van Loon, J.J.A. (2017). Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed – a review. *Journal of insects as food and feed*, 3(2), 105-120.
- Booth, D.C., & Sheppard, D.C. (1984). Oviposition of the black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): eggs, masses, timing and site characteristics. *Environmental Entomology*, 13, 421-423.
- De Haas, E.M., Wagner, C., Koelms, A.A., Kraak, M.H.S., & Admiraal, W. (2006). Habitat selection by chironomid larvae: fast growth requires fast food. *Journal Animal Economic*, 75, 148-155.
- Diener, S., Zurbrugg, C., & Tockner, K. (2011). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste and biomass valorization*, 2, 357-363.
- Erickson, M., Islam, M., Sheppard, C., Liao, J., & Doyle, M. (2004). Reduction of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *Journal of food protection*, 67, 685-690.
- Franco, A. C., Gallo, C. A., & López, A. R. (1973). Efecto de la pulpa de café en el aumento de peso de los cerdos. *Revista Cenicafé*, 24(2): 33-46.
- Furman, D.P., Young, R.D., & Catts, E.P. (1959). *Hermetia illucens* (Linnaeus) as a factor in the natural control of *Musca domestica* Linnaeus. *Journal Economic Entomology*, 52, 917-921.
- Gobbi, P., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S. (2013). The effects of larval diet on adult life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *European Journal of Entomology*, 110(3), 461-468.
- Hall, D.C., & Gerhardt, R.R. (2002). Flies (Diptera). En: G. Mullen., & L. Durden (Eds.), *Medical and veterinary Entomology*. (pp 127-161). San Diego: Academic Press.
- Hem, S., Toure, S., Sagbla, C., & Legendre, M. (2008). Bioconversion of palm kernel meal for aquaculture. Experiences from the forest region (Republic of Guinea). *African journal of biotechnology*, 7, 1992-1198.
- Larde, G. (1990). Recycling of coffee pulp by *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Biological wastes*, 33, 307-310.
- Liu, Q.L., Tomberlin, J.K., Brady, J.A., Sanford, M.R., & Yu, Z.N. (2008). Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environmental Entomology*, 37, 1525-1530.
- Myers, H., Tomberlin, J.K., Lambert, B.D., & Kattes, D. (2008). Development of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. *Environmental Entomology*, 37 (1):11-15.
- Montilla, P. J., Arcila, P. J., Aristizábal, L. M., Montoya, R. E., Puerta, Q. G. I., Oliveros, T. C. E., & Cadena, G. G. (2008). Caracterización de algunas propiedades físicas y factores de conversión del café durante el proceso de beneficio húmedo tradicional. *Revista Cenicafé*, 59 (2), 120-142.
- Newton, G.L., Boora, C.V., Barker, R.W., & Hale, O.M. (1977). Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *Journal Animal Science*, 44, 395-400.
- Rehman, K.U., Rehman, A., Cai, M., Zheng, L., Xiao, X., Somroo, A.A., Wang, H., Li, W., Yu, Z., & Zhang, J. (2017). Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.). *Journal of cleaner production*, 154, 366-373.
- Rendón, J. R., García, J. C., González, H., & Ramírez, J. J. (2015). Análisis técnico del proceso de lombricultura en pulpa de café para la producción de abono orgánico. *Revista Cenicafé*, 66(2): 7-16.
- Rodríguez, N. & Zambrano, D. A. (2010). Los subproductos del café: Fuente de energía renovable. *Avances Técnicos Cenicafé*, 393, 1-8. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/351>

- Rodríguez, N. & Zambrano, D. A. (2011). Producción de alcohol a partir del mucilago del café. *Revista Cenicafé*, 62(1), 56-69.
- Rozkosny, R. (1983). A biosystematics study of the European Stratiomyidae (Diptera). Vol. 2. *Clitellariinae, Hermetiinae, Pachygastrinae*. Series entomologicas. The Hague: Dr. W. Junk Publishers.
- Sheppard, D.C. (1983). House fly and lesser fly control utilizing the black soldier fly in manure management systems for caged laying hens. *Environmental Entomology*, 12, 1439-1442.
- Sheppard, D.C., Newton, G.L., & Thompson, S.A. (1994). A value added manure management system using the black soldier fly. *Bioresource Technology*, 50, 275-279.
- Sheppard, D.C.; Tomberlin, J.K.; Joyce, J.A.; Kiser, B.C.; & Summer, S.M. (2002). Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Journal Medical Entomology*, 39(4), 695-698.
- Suárez, S. (2001). La materia orgánica en la nutrición del café y el mejoramiento de los suelos de la zona cafetera. *Avances Técnicos Cenicafé*, 283, 1-8.
- Tingle, F.C., Mitchell, E.R., & Copeland, W.W. (1975). The soldier fly, *Hermetia illucens*, in poultry houses in North Central Florida. *Journal Georgia Entomological Society*, 10, 179-183.
- Triplehorn, C.A., & Johnson, N.F. (2005). *Borror and Delong's introduction to the study of insects*. 7th editions. California: Thomson Brooks/Cole.
- Tomberlin, J.K., Adler, P., & Myers, H.M. (2009). Development of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) in relation to temperature. *Environmental Entomology*, 38(3), 930-934.
- Tomberlin, J.K., Sheppard, D.C., & Joyce, J.A. (2005). Black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) colonization of pig carrion in South Georgia. *Journal Forensic Science*, 50, 152-153.
- Tomberlin, J.K., & Sheppard, D.C. (2002). Factor influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) in a colony. *Journal Entomological Science*, 37, 345-352.
- Tomberlin, J.K., & Sheppard, D.C. (2001). Lekking behavior of the black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Florida Entomologist*, 84, 729-730.
- Tomberlin, J.K., Sheppard, D.C., & Joyce, J.A. (2002). Selected life-history traits of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) reared on three artificial diets. *Annals of entomological society of America*, 95, 379-386.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2015). World Urbanization Prospects: The 2014 Revision, (ST/ESA/SER.A/366).
- Uribe, H. A., & Salazar, A. J. N. (1983). Influencia de la pulpa del café en la producción del cafeto. *Revista Cenicafé*, 34(2): 44-58.
- Üstüner, T., Hasbenli, A., & Rozkosny, R. (2003). The first record of *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Stratiomyidae) from the near east. *Studia dipterologica*, 10, 181-185.
- Wang, Y.S., & Shelomi, M. (2017). Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. *Foods*, 6(91), 1-23.

VALIDACIÓN DEL MANEJO INTEGRADO DE *Hypothenemus hampei* FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN EL HUILA, COLOMBIA

Ferney López Franco*, Laura Alexandra Laiton Jiménez*, Pablo Benavides Machado*

LÓPEZ F., F.; LAITON J., L. A.; BENAVIDES M., P. Validación del manejo integrado de *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae) en el Huila, Colombia. Revista Cenicafé 70(2):91-97. 2019

El café es el principal producto agrícola de exportación de Colombia, siendo el Huila el mayor proveedor actual. La plaga más limitante es la broca de café. El objetivo de este trabajo fue validar en el campo las estrategias de control usadas en el manejo integrado de la broca. Para esto, se tomó un lote de café en el municipio de Pitalito y se dividió en cuatro parcelas experimentales, correspondiendo a los siguientes métodos de control: M1 Control biológico, M2 Control químico, M3 Control cultural y M4 Testigo manejo implementado por el agricultor. Se evaluó la infestación de broca en el campo y en café pergamino seco, por medio de un muestreo aleatorio simple. Mediante el estimador de razón de los frutos infestados por cada 100 frutos se determinó que el M3 Control cultural fue descriptivamente menor con respecto a los demás métodos de control en el campo. De manera consecuente, el M3 presentó el menor porcentaje de infestación en café pergamino seco. Cuando se implementó el control cultural, se registró en el campo una reducción del 74,55% en el estimador de razón y del 54% en el porcentaje de infestación en café pergamino, con respecto al M4 manejo del agricultor. Esta investigación permite recomendar el control cultural como la mejor estrategia de control de la broca, así mismo, transferir estos resultados a los caficultores de Huila. El control cultural consistió en la cosecha oportuna y en el repase con recolección de frutos del suelo asistidas con dispositivos “canastillas”.

Palabras clave: Control de plagas, control cultural, control biológico, control químico, manejo integrado de plagas.

VALIDATION OF INTEGRATED PEST MANAGEMENT FOR COFFEE BERRY BORER, *Hypothenemus hampei* FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) IN HUILA

Coffee is the main exported agricultural product of Colombia, and Huila is currently the largest provider. The most limiting insect pest is Coffee Berry Borer. The objective of this study was to validate, in field conditions, the control strategies used for the Integrated Pest Management for Coffee Berry Borer. Thus, a coffee lot in the municipality of Pitalito was taken and divided into four experimental plots for the following control methods: M1 Biological control, M2 Chemical control, M3 Cultural control and M4 Control implemented by the farmer. Coffee Berry Borer infestation levels in field and in parchment coffee during harvesting was evaluated through a simple random sampling procedure. A ratio estimator of infested berries per 100 berries, the M3 cultural control was found to be descriptively lower than the other field control methods. Consequently, M3 also showed the least infested coffee parchment levels. When cultural control was implemented, there was a reduction of 74.55% on the ratio estimator and 54% on the infestation level of coffee parchment with respect to M4 Control implemented by the farmer. This research allowed to recommended cultural control as the best strategy to control Coffee Berry Borer and, ideally, to transfer these results to coffee growers in Huila. The cultural control strategy consisted in rigorous harvesting complemented with repassing and picking coffee berries from the trees and the ground using “canastilla” devices.

Keywords: Insect pest control, Cultural control, Biological control, Chemical control, Integrated Pest Management.

*Asistente de Investigación, Asistente de Investigación e Investigador Científico III, respectivamente. Disciplina de Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), es la plaga más limitante de este cultivo en el mundo (Decazy, 1987). Desde su llegada a Colombia en 1988, se ha convertido en el principal problema fitosanitario del cultivo del café por atacar y reproducirse en los frutos, ocasionando pérdidas en producción y calidad, lo que a su vez, incrementa los costos y reduce el precio de venta (Benavides *et al.*, 2003). El departamento del Huila es el mayor productor de café de Colombia, con cerca de 150.000 hectáreas sembradas (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2018) y, por ende, la presencia de la broca en los cultivos vulnera la economía del departamento.

Esta plaga presenta dificultades para su control dada su biología y comportamiento, debido a que el adulto está protegido en el interior de los frutos y se reproduce rápidamente (Benavides *et al.*, 2003). En este sentido, el Centro Nacional de Investigaciones de Café-Cenicafé implementó un programa de Manejo Integrado de la Broca (MIB) que, además de controlar la plaga, pretende conservar los agroecosistemas cafeteros y sus múltiples interacciones (Bustillo *et al.*, 1998); este programa combina prácticas agronómicas (Bustillo-Pardey, 2007), biológicas (Baker, 1999; Bustillo y Posada, 1996; Flórez *et al.*, 1997), culturales (Benavides *et al.*, 2003; Cárdenas, 1996) y químicas, tendientes a reducir las poblaciones de la broca a niveles que no causen daños económicos (Arcila, 2016; Bustillo *et al.*, 1998; Villalba-Gault *et al.*, 1995). Con ello, se busca mejorar la producción y la competitividad para la exportación y, además, aportar a la sostenibilidad de la producción cafetera, sin deteriorar la calidad del café y sin poner en riesgo la salud humana ni el equilibrio ambiental (Duque, 2004).

Dentro del MIB se considera como pilar fundamental el control mediante prácticas

culturales, que consisten en la recolección oportuna de frutos maduros y el repase (Re-Re), el cual se define como la recolección de frutos de café secos, sobremaduros y maduros de los árboles, y si es necesario frutos del suelo, finalizados los periodos de las cosechas principal y de mitad de año o “mitaca” (Benavides y Constantino, 2008). Para esta práctica, Cenicafe evaluó la eficacia de un dispositivo tipo canastilla que recolecta frutos que se encuentran en el suelo, con el que se obtuvo hasta 50,6% de reducción en los niveles de infestación de broca, respecto a un testigo donde no hubo recolección (Constantino, 2018; Constantino *et al.*, 2017; Constantino *et al.*, 2016). En el área del control biológico, el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin como insecticida biológico ha demostrado ser eficaz, regulando las poblaciones del insecto, logrando hasta 70% de mortalidad en el campo (Benavides *et al.*, 2012; Cárdenas-Ramírez *et al.*, 2007; Góngora, 2011; Góngora-Botero *et al.*, 2009; Jaramillo *et al.*, 2015). El uso de insecticidas químicos es una opción dentro del MIB y su recomendación se da en función de la eficacia en el control del insecto; se ha verificado la validez de los insecticidas independiente de su formulación, ya que sólo son eficaces en el control de la broca cuando el insecto se encuentra penetrando los frutos (Bustillo-Pardey, 2007). Dentro de los insecticidas de síntesis química usados para el control de la broca, Voliam Flexi® (100 g clorfaniliprole y 200 g tiametoxam) que contiene diamidas antranílicas, es un producto de clasificación toxicológica III (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, 2019) que ha mostrado porcentajes de mortalidad superiores al 85% en el campo, posterior a ocho días después de la aplicación (Arcila *et al.*, 2013).

Dada la vulnerabilidad de los cafetales del departamento del Huila, el objetivo de este estudio fue validar en el campo estrategias

de control usadas en el Manejo Integrado de la Broca (MIB), comparándolas con la estrategia de control realizado por un caficultor en Pitalito, Huila.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó entre enero y diciembre de 2017, en la vereda Solarte, en el municipio de Pitalito (Huila), a una altitud de 1.280 m (1°50'34.8" latitud N y -76°4'23.9" longitud O). Se seleccionó un lote de café variedad Castillo® con cuatro años de edad, dividido en cuatro parcelas experimentales, con 2.200 árboles cada una. En cada parcela se hizo un repase inicial, recolectando los frutos pintones, maduros, sobremaduros y secos que quedaron después de la cosecha, y posteriormente, se asignaron los siguientes métodos de control:

M1. Manejo integrado con énfasis en el control biológico: se utilizó el hongo *Beauveria bassiana* (Brocaril 2,0 g L⁻¹ de agua) en una concentración de 2 x 10¹⁰ esporas por litro de agua, haciendo la aspersión con bomba de espalda y aplicando 50 mL de mezcla por árbol.

M2. Manejo integrado con énfasis en el control químico: se usó el insecticida Voliam Flexi® utilizando 1,4 mL L⁻¹ de agua y 50 mL de la mezcla por árbol.

M3. Manejo integrado con énfasis en el control cultural: en este esquema de manejo integrado se eliminaron las ramas bajas de los árboles correspondientes al 20% del área foliar después del repase inicial. Adicionalmente, se recolectaron frutos del suelo usando dispositivos de asistencia manual (canastilla).

M4. Manejo del agricultor: se realizó un seguimiento al manejo de la broca según el criterio del agricultor, el cual consistió en cosechas oportunas.

Para cada método de control evaluado se determinó la manera y la frecuencia de aplicación, utilizando la metodología desarrollada por Benavides *et al.* (2003), la cual consistió en realizar unas evaluaciones diagnóstico, que incluyeron el registro semanal de las floraciones para determinar el período crítico de la broca, la estimación del porcentaje de infestación de la plaga en el campo y el análisis de la posición del insecto en el fruto. De esta manera, se controló la plaga en M1 y M2 cuando se presentaron las siguientes tres condiciones: (1) los frutos estaban en período crítico, es decir, entre los 120 y 150 días después de la floración principal, (2) el porcentaje de infestación de broca superó el 2%, y (3) el porcentaje de broca encontrada en posiciones A y B fue mayor al 50%.

Infestación de broca en el campo. En cada parcela se evaluaron mensualmente 60 árboles de café seleccionados por medio de un muestreo aleatorio simple, en los cuales se procedió a tomar la información de la siguiente manera: se seleccionó la rama con mayor producción, donde se contabilizaron el número de frutos totales (FT) y aquellos que se encontraban perforados por la broca (FB), con el fin de estimar el porcentaje de infestación. Se realizó un análisis descriptivo de la información utilizando el promedio del porcentaje de infestación y un estimador de razón (Ecuación <1>) por cada método de control y cada mes, teniendo en cuenta solo la información de los árboles con más de 20 frutos totales en cada evaluación.

$$\text{Estimador de razón} = \left(\frac{FB}{(FT-FB)} \right) * 100 \quad <1>$$

Infestación de broca en el café pergamino seco (c.p.s.). En tres pases de la cosecha principal, ocurridos en septiembre y octubre del 2017, se beneficiaron tres muestras de 15 kg de café

cereza por parcela. Posteriormente, se evaluó el nivel de infestación de broca en el pergamino seco resultante con ayuda de la Cooperativa de Caficultores del Huila- Cadefihuila de Pitalito. Se realizó un análisis descriptivo estimando el promedio del porcentaje de infestación y el rango para cada método de control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Infestación de broca en el campo

El método de control que presentó los menores porcentajes de infestación durante todo el período de evaluación fue el M3 Cultural (Tabla 1). En casi todos los meses los porcentajes de infestación de broca no superaron el 4%; sin embargo, en noviembre, finalizando la cosecha se presentaron los índices más altos de infestación, siendo el M3 Cultural con

2,71%, el método de control que presentó el menor porcentaje de infestación.

De manera descriptiva, a través del estimador de razón, fue posible determinar que en el mes de noviembre el M3 Cultural presentó el menor número de frutos brocados por cada 100 frutos, mostrando una reducción del 74,55% con respecto al M4 Manejo del agricultor; este valor es superior al reportado por Constantino *et al.* (2017), que encontraron 50,6% menos infestación con respecto a un testigo sin repase. Así mismo, el M2 Químico y el M1 Biológico tuvieron una disminución de 61,49% y 49,46%, respectivamente (Figura 1), siendo el primero similar al reportado por Arcila *et al.* (2013), quienes obtuvieron una reducción del 64% en la infestación de broca con respecto a un testigo en pruebas de campo cuando aplicaron insecticidas de síntesis química.

Tabla 1. Porcentaje de infestación de la broca en el campo por método de control (promedio y error estándar).

Mes	M1 Biológico	M2 Químico	M3 Cultural	M4 Manejo del agricultor
Enero	0,37 ± 0,20	0,12 ± 0,05	0,17 ± 0,09	0,33 ± 0,13
Febrero	1,27 ± 0,28	1,42 ± 0,34	0,6 ± 0,25	1,95 ± 0,28
Marzo	1,51 ± 0,23	0,95 ± 0,16	0,53 ± 0,12	0,92 ± 0,13
Abril	1,44 ± 0,27	2,73 ± 0,40	0,7 ± 0,14	2,14 ± 0,44
Mayo	2,66 ± 0,52	1,47 ± 0,30	0,89 ± 0,31	3,19 ± 0,45
Junio	2,53 ± 0,38	1,73 ± 0,30	0,62 ± 0,14	2,1 ± 0,43
Julio	0,79 ± 0,16	1,88 ± 0,41	0,92 ± 0,52	1,28 ± 0,25
Agosto	2,28 ± 0,43	2,48 ± 0,45	1,03 ± 0,21	3,83 ± 0,70
Septiembre	1,62 ± 0,31	1,52 ± 0,30	1,28 ± 0,32	2,46 ± 0,46
Octubre	2,02 ± 0,34	2,63 ± 0,53	1,47 ± 0,32	2,77 ± 0,49
Noviembre	12,08 ± 2,76	7,31 ± 1,50	2,71 ± 0,62	15,65 ± 2,19
Diciembre	0 ± 0,00	0 ± 0,00	0 ± 0,00	0 ± 0,00
Promedio (año)	2,38 ± 0,91	2,02 ± 0,54	0,91 ± 0,20	3,86 ± 1,98

Infestación de broca en el café pergamino seco (c.p.s.)

En la evaluación de infestación de broca en el c.p.s., descriptivamente, el método de control que presentó el menor porcentaje de infestación fue el M3 Cultural (Figura 2), seguido del M2 Químico con un 0,86%. El método de control con mayor porcentaje de infestación fue el M4 Manejo del agricultor con 1,39%.

El método M3 Cultural presentó una mayor reducción en el porcentaje de infestación de broca con 54% con respecto a M4 Manejo del agricultor. El M2 Químico y el M1 Biológico disminuyeron 38% y 22%, respectivamente. Los resultados del M3 Cultural superaron los

valores de 28% reportados por Constantino *et al.* (2017) cuando fue comparado frente a un testigo sin repase. El M2 Químico mostró un resultado inferior al obtenido por Arcila *et al.* (2013) de 66% de la infestación en el c.p.s. al usar productos organofosforados.

Si bien la literatura reporta que existen expresiones matemáticas que relacionan la infestación en el campo con aquella en el café pergamino seco (Montoya, 1999), estas funciones no aplican para esta investigación dado que la evaluación del café pergamino seco correspondió a tres pases de cosecha principal, ocurrida entre los meses de septiembre y octubre del 2017. La información del mes de noviembre se limita al muestreo de campo.

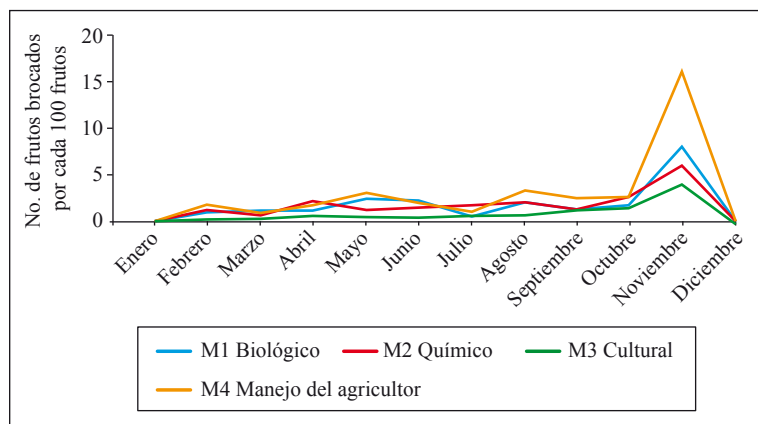


Figura 1. Estimador de razón para el número de frutos brocados por cada 100 frutos a través del tiempo para cada método de control.

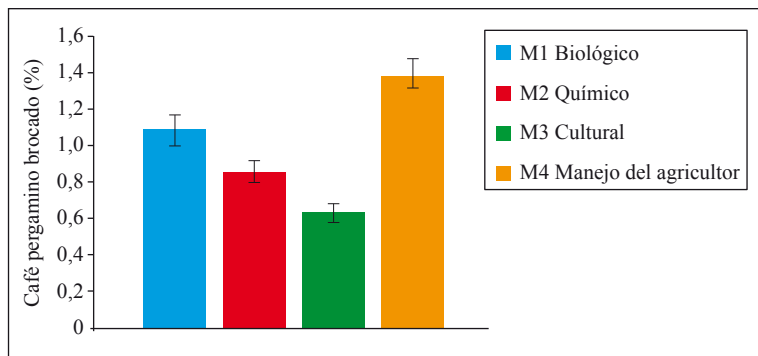


Figura 2. Promedio del porcentaje de café pergamino seco brocado para cada método de control. Las barras indican el rango.

Sin embargo, como era de esperarse, en los métodos donde se encontraron las mayores cantidades de frutos infestados en el campo, también se observaron las mayores infestaciones en el café pergamino seco.

En este estudio puede concluirse que el manejo integrado de la broca disminuye y mantiene los niveles de la broca por debajo del daño económico. De todos los métodos de control utilizados dentro del MIB, el énfasis con control cultural presentó los mejores resultados; siendo la recolección del suelo con “canastillas” una práctica viable económicamente y con impacto en la disminución de la broca.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio hizo parte del proyecto de investigación ENT107006, financiado con recursos del Sistema General de Regalías del departamento de Huila (Colombia), mediante el convenio CN-2015-0025. Los autores agradecen a la auxiliar de investigación Adriana Paola Gómez por el apoyo en las labores de campo y a la Cooperativa de Caficultores Cadefihuila de Pitalito (Huila) por su apoyo en las evaluaciones de calidad física del café.

LITERATURA CITADA

Arcila, A. (2016). Insecticidas químicos recomendados para el control de la broca del café. *Brocarta*, 49, 2.

Arcila, A., Duarte, A. F., Villalba, D. A., & Benavides, P. (2013). Nuevo producto en el manejo integrado de la broca del café en Colombia. *Avances Técnicos Cenicafe*, 437, 1-8. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/477>

Baker, P. S. (1999). *La broca del café en Colombia; Informe final del proyecto MIP para el café DFID-Cenicafe-CABI Bioscience*. Chinchiná, Colombia: Cenicafe

Benavides, P., Bustillo, A. E., Cárdenas, R., & Montoya, E. C. (2003). Análisis biológico y económico del manejo

integrado de la broca del café en Colombia. *Revista Cenicafe*, 54 (1), 5-23.

Benavides, P., & Constantino, L. M. (2008). Control cultural en el manejo integrado de plagas. En A. E. Bustillo P. (Ed.), *Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana* (pp. 234 – 241). Manizales, Colombia: Cenicafe.

Benavides, P., Góngora, C., & Bustillo, A. (2012). IPM Program to Control Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei*, with Emphasis on Highly Pathogenic Mixed Strains of *Beauveria bassiana*, to Overcome Insecticide Resistance in Colombia. En F. Perveen (Ed.), *Insecticides-Advances in Integrated Pest Management* (pp. 511-540). <https://doi.org/10.5772/28740>

Bustillo, A. E., Cárdenas, R., Villalba, D. A., Benavides, P., Orozco, J., & Posada, F. J. (1998). *Manejo integrado de la broca del café: Hypothenemus hampei Ferrari en Colombia*. Recuperado de <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/848>

Bustillo, A. E., & Posada, F. J. (1996). El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. *Manejo Integrado de Plagas, Costa Rica*, 42, 1-13.

Bustillo-Pardey, A. E. (2007). El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. *Boletín técnico Cenicafe*, 24, 1-40. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/579>

Vélez, P.E., Posada, F.J., Marín, P., González, M.T., Osorio, E. & Bustillo, A.E. (1997). Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Boletín técnico Cenicafe*, 1-37. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/709>

Cárdenas M., R. (1996). Control cultural de la broca del café. En *Memorias del Curso de Actualización sobre Manejo Integrado de la Broca del Café* (Comité Departamental de Cafeteros de Antioquia-SIADA-Cenicafe). Medellín, Colombia.

Cárdenas-Ramírez, Á. B., Villalba-Guott, D. A., Bustillo-Pardey, A. E., Montoya-Restrepo, E., & Góngora, C. (2007). Eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. *Revista Cenicafe*, 58(4), 293-303.

Constantino, L. M. (2018). Impacto del repase en la cosecha principal de café. *Brocarta*, 50, 2.

Constantino, L. M., Oliveros, C. E., Benavides, P., Gómez, J. C., Serna, C. A., Ramírez, C. A., Arcila, A. (2016).

- Recolección de frutos de café del suelo con canastilla: Herramienta para el manejo integrado de la broca. *Avances Técnicos Cenicafe*, 468, 1-8. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10778/706>
- Constantino, L. M., Oliveros, C. E., Benavides, P., Serna, C. A., Ramírez, C. A., Medina, R. D., & Arcila, A. (2017). Dispositivo recolector de frutos de café del suelo para el manejo integrado de la broca. *Revista Cenicafe*, 68 (1), 22-37.
- Decazy, B. (1987). Métodos de control químico y cultural de la broca del fruto de cafeto. En *Memorias del curso sobre manejo integrado de plagas del café con énfasis en broca del fruto Hypothenemus hampei (Ferrari)* (pp. 147-158). Guatemala: IICA: PROMECAFE.
- Duque, H. (2004). *Cómo reducir los costos de producción en la finca cafetera*. (2.ª ed.). Recuperado de https://www.cenicafe.org/es/publications/Como_reducir_los_costos_de_produccion_C3%B3n_en_la_finca_cafetera.pdf
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia–FNC. (2018). Informe del gerente general 2018. Recuperado 24 de abril de 2019, de https://www.federaciondefcafeteros.org/static/files/Periodico_IGG2018.pdf
- Flórez, E., Bustillo, A. E., & Montoya, E. C. (1997). Evaluación de equipos de aspersión para el control de *Hypothenemus hampei* con el hongo *Beauveria bassiana*. *Revista Cenicafe*, 48 (2), 92-98.
- Góngora, C. E. (2011). ¿Cómo usar el hongo *Beauveria bassiana* para proteger su cosecha de café?. *Brocarta*, 42, 2.
- Góngora-Botero, C. E., Marín-Marín, P., & Benavides-Machado, P. (2009). Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café. *Avances Técnicos Cenicafe*, 384, 1-8.
- Instituto Colombiano Agropecuario – ICA. (2019). *Listado de registros nacionales de plaguicidas químicos de uso agrícola*. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/getdoc/d3612ebf-a5a6-4702-8d4b-8427c1cdaeb1/registros-nacionales-pqua-15-04-09.aspx>
- Jaramillo, J. L., Montoya, E. C., Benavides, P., & Góngora, C. E. (2015). *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* mix to control the coffee berry borer in soil fruits. *Revista Colombiana de Entomología*, 41(1), 95-104.
- Montoya, E. C. (1999). Caracterización de la infestación del café por la broca y efecto del daño en la calidad de la bebida. *Revista Cenicafe*, 50(4), 245-258.
- Villalba-Gault, A., Bustillo-Pardey, A. E., & Chaves-Córdoba, B. (1995). Evaluación de insecticidas para el control de la broca del café en Colombia. *Revista Cenicafe*, 46(3), 152-163.

FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA
GERENCIA TÉCNICA
PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA
Centro Nacional de Investigaciones de Café
“Pedro Uribe Mejía”

DIRECCIÓN

Álvaro León Gaitán B., Microbiólogo, Ph.D.
Ángela Jaramillo G., Prof. en Comercio Internacional, Esp.

DISCIPLINAS DE INVESTIGACIÓN

Calidad

Valentina Osorio P., Ing. Alimentos, Esp.
Jenny Paola Pabón U., Ing. Agrícola, M.Sc.
Claudia Patricia Gallego A., Bacterióloga
Luz Fanny Echeverry G., Química
Claudia Rocío Gómez P., Tecnóloga Química
Alexis Urriago Y., Técnico en Producción Agrícola
Paola Andrea Calderón T., Tecnólogo en Producción Agropecuaria Ecológica

Biometría

Rubén Darío Medina R., Estadístico, M.Sc.
Esther Cecilia Montoya R., Estadístico, M.Sc.
Hernando García O., Ing. Agroforestal
Luis Carlos Imbachi Q., Estadístico
Nancy Flórez P., Aprendiz

Economía Agrícola

Hugo Mauricio Salazar E., Ing. Agrónomo, M.Sc.
César Alberto Serna G., Contador, M.Sc.
Juan Carlos Gómez S., Contador, Ing. Agrónomo, M.Sc.
Fisiología Vegetal
José Ricardo Acuña Z., Biólogo Ph.D.
Aristóteles Ortiz, Químico, M.Sc.
Carlos Andrés Unigarro M., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Natalia Catalina Flechas B., Bióloga
Marta Bibiana Escobar P., Tecnóloga Química
Claudia Patricia Valencia V. Técnico en producción de café
Claudia Marcela Mora A.
Mario Franco A.
Juan David Osorio G., Pasante Universitario

Suelos

Siavosh Sadeghian K., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Hernán González O., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Luis Fernando Salazar G., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Luz Adriana Lince S., Ing. Agrónomo, Geóloga, M.Sc.
Juan Camilo Rey S., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Vanessa Catalina Díaz P., Química, Esp
Stephanía Rincón B., Tecnóloga Química
Sebastián García B. Tecnólogo en Gestión de Recursos Naturales
Arturo Gómez V.

Fitotecnia

Francisco Fernando Farfán V., Ing. Agrónomo, M.Sc.
José Raúl Rendón S., Ing. Agrónomo, M.Sc.

Andrés Mauricio López L., Médico Veterinario y Zootecnista, M.Sc.
Rocío Espinosa A., Médico Veterinario y Zootecnista, M.Sc.
Andrés Felipe León B., Ing. Agrónomo
Cristian Salomón Rodríguez V., Ing. Agrónomo
Alexander Jaramillo J.

Mejoramiento Genético

Claudia Patricia Flórez R., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Diana María Molina V., Bacterióloga, Ph.D.
Carlos Ernesto Maldonado L., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Juan Carlos Arias S., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Hernando A. Cortina G., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Julio Quiroga C., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Luisa Fernanda López M., Ing. Agrónomo
Carlos Augusto Ramírez C., Administrador de Empresas Agropecuarias
Carlos Augusto Vera A., Administrador Financiero
Jairo Jaramillo O., Ing. Mecatrónico
Marlio Fernando Abella D., Agrónomo
Mauricio Jiménez S., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Gilbert Rodríguez Q., Técnico Profesional en Desarrollo de Producción Pecuaria
Jhon Esteban Quintero A., Técnico en Producción de Café
Hernán Díaz C.
Cruz Elena Díaz M.
Omar Villarreal
Keiner Sebastián Jaramillo T., Pasante Universitario
Stefania Marulanda R., Pasante Universitario

Entomología

Pablo Benavides M., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Carmenza E. Góngora B., Microbióloga, Ph.D.
Zulma Nancy Gil P., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Marisol Giraldo J., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Lucio Navarro E., Biólogo, Ph.D.
Luis Miguel Constantino C., Biólogo Entomólogo, M.Sc.
Aníbal Arcila M., Ing. Agrónomo
Mauricio Jiménez Q., Agrónomo
Jesús Hernando Gómez L., Biólogo
Juan Diego Maldonado C., Biólogo
Ferney López F., Ing. Agrónomo
Laura Alexandra Laiton J., Ing. Agrónomo
Diana Soraya Rodríguez A., Técnico en Producción de Café
Luis Eduardo Escobar S., Tecnólogo en Gestión Agropecuaria
Juan Carlos Ortiz F.
Carlos Alberto Quintero A.
Claudia Bibiana Tabares B.
Faber de Los Ríos P.
Diana Marcela Giraldo V.
José Robin García Castaño
Fernán Santiago Mejía A., Pasante Universitario
Juan Guillermo Orrego M., Pasante Universitario

Agroclimatología

Juan Carlos García L., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Ninibeth Gibelli Sarmiento H., Ing. Agrícola
Carolina Ramírez C., Ing. Agrícola, M.Sc.
Jonnier Alejandro Hoyos A., Tecnólogo en gestión agropecuaria
Wíllmar A. Rondón G., Tecnólogo en Sistemas Informáticos
Jorge Wilmar Valencia G., Tecnólogo en Análisis y Desarrollo de Sistemas de Información
Luis Gonzaga Henao R.
Luis Fernando Torres Q.
Orlando Salazar G.

Fitopatología

Carlos Ariel Ángel C., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Rosa Lilia Ferrucho, Ing. Agrónoma, Ph.D.
Nancy del Carmen Arciniegas B., Ing. Agrónoma, M.Sc.
Gustavo Adolfo Marín R. Ing. Agrónomo, M.Sc.
Carlos Alberto Rivillas O., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Isabel Cristina Ramírez P., Ing. Agrónomo
Carlos Alberto Zuluaga E., Técnico en Mantenimiento de Computadores y Redes de datos.
Carlos Arturo González V.
Jorge Dickson Ocampo M.
Jaroliver Cardona G.
Cindy Michel Ospina G., Aprendiz

Poscosecha

Juan Rodrigo Sanz U., Ing. Mecánico, Ph.D.
Nelson Rodríguez V., Ing. Químico, Ph.D.
Aída Esther Peñuela M., Ing. Alimentos, Ph.D.
César Augusto Ramírez G., Arquitecto, M.Sc.
Juan Carlos López N., Microbiólogo, M.Sc.
Álvaro Guerrero A., Ing. Electrónico/Electricista, M.Sc.
Laura Vanessa Quintero Y., Ing. Química, M.Sc.
Carlos Alfonso Tibaduiza V., Ing. Agrícola, M.Sc.
Diego Antonio Zambrano F., Ing. Químico
Ricardo José Grisales M., Tecnólogo en Electrónica
Jorge Alexander Londoño C., Técnico en Soldadura
Mario Espinosa G.
Javier Velásquez H.
Samuel Castañeda
Camilo Andrés Morcillo S., Pasante Universitario
José Miguel Jaramillo G., Aprendiz Universitario
Valeria Barco G., Aprendiz

EXPERIMENTACIÓN

Carlos Gonzalo Mejía M., Administrador de Empresas Agropecuarias, M.Sc.
José Farid López D., Tecnólogo en Administración Agropecuaria
Alejandra Marcela Garcés G., Tecnólogo en Administración Agropecuaria
Yolanda Castaño G.

Estación Experimental Naranjal

Jhon Félix Trejos P., Ing. Agrónomo
Tito Alberto Ramírez S.
Víctor Alfonso Díaz R., Aprendiz

Estación Experimental El Tambo

Hernán Darío Menza F., Ing. Agrónomo, M.Sc.

Estación Experimental El Rosario

Carlos Mario Ospina P., Ing. Forestal, M.Sc.

Estación Experimental La Catalina

Melsar Danilo Santamaría B., Ing. de Alimentos

Estación Experimental La Trinidad

Myriam Cañón H., Ing. Agrónomo

Estación Experimental Paraguaito

Daniel Antonio Franco C., Agrónomo

Estación Experimental Pueblo Bello

José Enrique Baute B., Ing. Agrónomo

Estación Experimental San Antonio

Carlos Roberto Ariza O., Ing. Agrónomo, Esp.

APOYO A LA INVESTIGACIÓN

Divulgación y Transferencia

Sandra Milena Marín L., Ing. Agrónoma, M.Sc.
Jair Montoya T., Administrador de Empresas, M.Sc.
Carmenza Bacca R., Diseñadora Visual
Óscar Jaime Loaiza E., Diseñador Visual
Luz Adriana Álvarez M., Diseñadora Visual
Paula Andrea Salgado V., Administrador Financiero
David Antonio Torres C., Aprendiz
Gineth Lorena Gaviria B., Aprendiz

Tecnología de la Información y Comunicaciones

Luis Ignacio Estrada H., Ing. Químico
Carlos Hernán Gallego Z., Ing. de Sistemas, Esp.
Miguel Alfonso Castiblanco C., Bibliotecólogo/Ing. de Sistemas
Elkin Marcelo Valencia L., Ing. de Sistemas, Esp.
Daniel Orozco J., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
Leonardo Adolfo Velásquez N., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
Kevin Adolfo Hincapié V., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
Andrés Felipe Ramírez M., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
José Rubiel Castrillón G., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
Auberto Quiroga M., Biólogo, Esp.
Juan Camilo Espinosa O., Ing. Topográfico, Esp.
Juan Pablo Carvajal B., Ing. Electrónico
Federico Higuera R., Pasante, Universitario
Miguel Ángel Salamanca Q., Pasante Universitario

UNIDAD ADMINISTRATIVA Y FINANCIERA

Luz Miryam Corredor R., Administradora de Empresas, Contador Público, Esp.
Rufina Perdomo G.
Nancy Elena Pérez M., Contador

Gestión Contable y Tributaria

Martha Elena Vélez H., Contadora, Esp.
Daniela López O., Contadora, Esp.

Jorge Eduardo Dávila M., Contador Público, Esp.
Luis Alfredo Amaya F., Administrador Público
Lina Marcela Patiño G., Administradora de Empresas
Mariana Osorio L., Aprendiz

Gestión de Bienes y Servicios - Compras y Contratación

Juan David Alzate O., Economista, M.Sc.
Mauricio Loaiza M., Ing. Industrial
Carolina Correa M., Profesional en Negocios Internacionales
Diego Alejandro Muñoz G., Economista
Lina María Giraldo., Administrador Financiero
Luz Stella Duque C., Tecnóloga en Administración de Negocios
Jesús Alberto Vergara T., Técnico en Sistemas
Gabriel Antonio Melo P.
Laura Vanessa Hernández T., Aprendiz
Natalia Bueno V., Aprendiz

Gestión de Bienes y Servicios - Mantenimiento

Paulo Alejandro Arias C., Ing. Electricista, Esp.
Cristian Andrés Chica G., Ing. Mecatrónico
María Alejandra López R., Ing. Mecatrónica
Robinson Guzmán G., Técnico Electricista
Jorge Hernán Marulanda E., Tecnólogo en Electrónica
Albert Johanne Agudelo L., Tecnólogo en Electrónica
Gabriel Hernando Ortiz C., Tecnólogo en Gestión Bancaria y Financiera
José Gildardo Aguirre O., Tecnólogo en Mantenimiento
Mauricio Londoño V., Tecnólogo en Mantenimiento Eléctrico Industrial

Electrónico e Instrumental Industrial
Uriel López P.
Eduardo Villegas A.
Fredy Hernán Osorio C.
Jhon Fredy Rojo G.
Jorge Eduardo Sepúlveda V.
Jorge Antonio Arias A.
Carlos Andrés Hernández G.
Fabián Sánchez L.
Mario López L.
Daniel Castaño G., Aprendiz

Gestión de Tesorería

Jesús Danilo González O., Contador, Esp.

Gestión del Talento Humano

Érica Mayerly Galvis R., Trabajadora Social, M.Sc.
Elsa Natalia Quintero C., Profesional en Salud Ocupacional, M.Sc.
Germán Uriel Granada, Administrador de Empresas, Esp.
Luz Yaneth Guarín C., Tecnóloga en Administración de Negocios

Planeación Financiera y Presupuesto

Jesús Alberto Cardona L., Ing. Industrial, M.Sc., PMP®
Valentina Sepúlveda C., Ingeniera Industrial, Esp., PMP®
Juan Manuel Meza S., Administrador de empresas, Esp.
Josué David Espitia F., Economista
Diana Marcela Buitrago R., Administrador de empresas
Cindy Yohanna Salazar V., Técnica en Administración

Instructivo para la elaboración de los artículos de la Revista Cenicafé

TEXTOS

- Digite los textos, no los diagrame.
- Cuando cite la palabra Cenicafé, escriba la primera letra en mayúscula y las siguientes en minúsculas.
- Los nombres científicos se escriben en letra itálica o cursiva; la primera letra debe ir en mayúscula, ejemplo: *Beauveria bassiana*.
- Las palabras *et al.*, *in vitro* y cualquier otra locución latina se escriben en letra itálica o cursiva.
- El estilo de escritura debe ser absolutamente impersonal, en tiempo gramatical pasado, evitando la conjugación de verbos en primera o tercera persona del singular o el plural.
- Las ecuaciones deben nombrarse y enumerarse mediante el siguiente modelo matemático <>: $A = R \times K \times S \times L \times C \times P <1>$.
- Si se emplean siglas y abreviaturas poco conocidas, se indicará su significado la primera vez que se mencionen en el texto y en las demás menciones bastará con la sigla o abreviatura.
- Evite al máximo el uso de nuevas siglas poco conocidas.

TABLAS Y FIGURAS

- Elabore las tablas en el formato de tabla de Word o de Excel.
- No las incluya en el documento como fotos o imágenes.
- Las cifras decimales sepárelas con una coma, no con punto.
- Las tablas deben titularse en la parte superior y al enunciarla en el texto, la palabra se debe escribir con la primera letra en mayúscula, ejemplo: Tabla 10.
- Las tablas deben crearse en blanco y negro.
- Como norma general, las figuras deben titularse en la parte inferior, y cuando enuncie la figura en el texto, la palabra se debe escribir con la primera letra en mayúscula, ejemplo: Figura 10.
- Las fotografías se deben tomar con el mayor tamaño (número de píxeles) y la mejor calidad (Fine) posibles, ya que esto asegura mejores impresiones de informes, pósteres o publicaciones.
- Las fotografías deben nombrarse con el autor y su descripción.
- Las tablas y figuras deben presentarse en archivos independientes y con numeración consecutiva (Tabla 1... Tabla n, Figura 1... Figura n, etc.).
- Los textos y tablas deben presentarse en el procesador de palabra Word.
- Las tablas y los diagramas de frecuencia (barras y torta) originales deben suministrarse en el archivo del manuscrito y también en su original de Excel.
- Otras figuras, como fotografías sobre papel y dibujos, se pueden enviar en originales o escanearlas y remitirlas en el formato digital de compresión JPG, preferiblemente con una resolución de 600 x 600 dpi (mínimo 300 dpi).

ECUACIONES

- Use una sola letra para denotar una variable y emplee subíndices para particularizar.
- Para las variables utilice letra itálica.
- El producto no se denota con *. Use solamente espacios.
- Las matrices y vectores se denotan con letra en negrilla e itálica.

SISTEMA DE UNIDADES

- En los productos de investigación a divulgar se utiliza exclusivamente el Sistema Métrico Decimal (SI), además de las unidades específicas de mayor uso por parte de la comunidad científica.

- Los puntos de multiplicación y los números superíndice negativos pueden ser usados solamente con unidades del SI (por ejemplo, $\text{m}^3\cdot\text{s}^{-1}$ y no m^3s^{-1} , que podría indicar milisegundos).
- No se debe interrumpir la notación de unidades del SI con símbolos que no corresponden a unidades del sistema internacional ni con palabras diferentes, porque las unidades son expresiones matemáticas. Reordene la frase apropiadamente, por ejemplo así:
 - El rendimiento en peso seco fue de $5\text{ g}\cdot\text{día}^{-1}$, y no $5\text{ g de peso seco}\cdot\text{día}^{-1}$
 - Se aplicaron $25\text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ del ingrediente activo, y no $25\text{ g i.a.}/\text{ha}$
 - Cada planta recibió $20\text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ de agua, y no $20\text{ g H}_2\text{O}/\text{ha}$ por planta
- Use la línea oblicua o *slash* (/) para conectar unidades del SI con unidades que no son del SI (por ejemplo: $10\text{ °C}/\text{h}$ ó $10\text{ L}/\text{materia}$).
- Nunca use el punto elevado (.) y el *slash* en la misma expresión. Si se hallan mezcladas unidades del SI con unidades que no son del SI, use primero el slash y luego la palabra 'por' en segundo término.
- Nunca utilice dos o más líneas oblicuas o *slashes* (/) o la palabra 'por' más que una vez en la misma frase, pues estos dos términos son equivalentes; por ejemplo en cepilladas/día por planta, redacte la frase así: cada planta fue cepillada dos veces al día. Para unidades totalmente verbales, use un slash, como en 3 flores/planta ó 10 frutos/rama.
- Use la misma abreviatura o símbolo para las formas en singular o plural de una unidad determinada (por ejemplo, 1 kg y 25 kg). Deje un espacio entre el valor numérico y el símbolo (por ejemplo, 35 g y no 35g). En una serie de medidas ponga la unidad al final (excepto para el signo de porcentaje) así: entre $14\text{ y }20\text{ °C}$ o hileras a 3, 6 y 9 m, pero 14%, 16% y 18%.
- En las publicaciones se emplea la coma (,) para separar decimales y el punto (.), para separar miles y millones.

BIBLIOGRAFÍA

Antes de enviar las propuestas de publicaciones tenga en cuenta que las citas deben estar ajustadas a las normas APA.

ESTRUCTURA DEL ARTÍCULO CIENTÍFICO

El artículo postulado para su publicación debe ser original o inédito, y de igual manera no puede estar postulado para su publicación en otras revistas.

Título - Máximo 16 palabras

- Que sea breve y preciso.
- Que identifique el aporte del estudio, es decir, hágalo interesante pero preciso.
- Si se incluye el nombre común o el binomial (científico) de una especie en el título, utilice uno de los dos pero nunca ambos.
- No prometa más de lo que va a entregar.
- Evite el uso de subtítulos.
- Evite abreviaturas, paréntesis, fórmulas, caracteres desconocidos.
- Nombre del (los) autor (es).
- Se debe incluir la profesión y demás títulos obtenidos.
- Si el autor o alguno de los autores ya no se encuentra trabajando en Cenicafé, se debe incluir la fecha de retiro (mes y año).
- Proveer una versión del título en inglés.

Resumen - Máximo 250 palabras

- El resumen debe señalar de manera concisa los objetivos, resultados y conclusiones del estudio.
- No debe contener referencias bibliográficas.
- Su contenido se debe entender sin tener que recurrir al texto, tablas y figuras.

- Al final del resumen deben incluirse de 3 a 6 palabras claves que describan los tópicos más importantes del trabajo, con el fin de facilitar la inclusión en los índices internacionales; las palabras claves no deben estar incluidas en el título.

Abstract - Máximo 250 palabras

Es la versión del resumen traducida al inglés. Debe ser preparado por el autor y debe incluirse.

Introducción - Máximo 1.000 palabras

Debe incluir:

- La naturaleza del problema, de manera concisa.
- El estado del problema (revisión de literatura).
- Solo deben citarse las referencias estrictamente pertinentes.
- No debe incluir datos, ni conclusiones del trabajo.
- El propósito de la investigación.

Materiales y métodos - Máximo 1.100 palabras

Debe escribirse de tal manera que un investigador con conocimiento del tema pueda repetirlo, que informe al lector cómo fue realizado el estudio y proporcione suficiente información para interpretarlo y evaluarlo. Esté seguro de no omitir información que pueda afectar la interpretación de los resultados, es decir:

- Describa las condiciones experimentales, precisa y concisamente.
- Los detalles del medio ambiente, especímenes, técnicas, materiales y equipos deben considerarse en esta sección del artículo.
- Haga énfasis en hechos que sean nuevos.
- No entre en detalle cuando se trate de métodos estandarizados de investigación.
- Use citas de literatura si son pertinentes.
- Si un método estándar ya publicado ha sido modificado, describa la naturaleza de los cambios.
- Describa los métodos en la secuencia que va a describir los resultados.
- La primera vez que mencione un nombre científico utilice el binomial con el clasificador, ejemplo: *Coffea arabica* L.; de allí en adelante sólo use el género abreviado y escriba la especie, ejemplo: *C. arabica*.
- Siempre use el tiempo pasado.
- Defina técnicamente las variables y cómo se obtienen.
- Describa el diseño experimental o soporte estadístico, de acuerdo con el tipo de investigación.
- Describa el análisis de la información.
- Describa los criterios de decisión.

Resultados y discusión – Máximo 2.500 palabras

En este capítulo se presentan los análisis y la interpretación de los datos obtenidos en la investigación, discutidos según los resultados anteriores. Como guías deben tenerse en cuenta las siguientes:

- Presente los datos en la secuencia abordada en la metodología.
- Use tablas o figuras (ilustraciones y gráficas).
- No repita los datos en distintas formas. O están en figuras o en las tablas o en el texto.
- Si el contenido total de la tabla puede ser descrito con claridad en el texto, no la presente. La tabla debe contener, al menos una medida de tendencia central, una medida de dispersión o intervalo de confianza, si requiere la prueba de comparación estadística. Al pie de la tabla indicar la prueba de comparación, con su nivel de significación y la descripción de las abreviaturas utilizadas en ella.
- Utilice la figura para ilustrar en forma rápida un resultado complejo.
- En el caso de ilustrar promedios, utilice los intervalos de confianza. No incluya en las figuras los datos de promedios ni las letras asociadas a la prueba de comparación.

- En una misma figura no incluya dos variables dependientes diferentes. Utilice correctamente el plano cartesiano.
- Las descripciones de figuras y tablas deben contener la información suficiente para entender los resultados descritos en ellas, sin tener que acudir al texto.
- El mensaje central debe ser suficientemente claro.
- Indique la aplicación de los resultados.
- Interprete los resultados.
- Discuta hechos controversiales con objetividad.
- Permítale al lector seguir su línea de pensamiento.
- Identifique resultados que abran nuevas posibilidades de estudio.
- No se sienta obligado a escribir una explicación positiva para cada faceta del estudio.
- Nunca utilice “se necesita hacer más trabajo...”
- No haga discusión trivial.

Agradecimientos - Máximo 70 palabras

Con esta sección se pretende abrir un espacio lo suficientemente notable para que se tengan en cuenta las personas que con sus aportes colaboraron a guiar o desarrollar las investigaciones o a redactar y revisar el manuscrito que se somete a consideración, y que de no existir una sección como ésta, el autor en ocasiones se ve forzado a considerarlas como coautoras del artículo. Además, debe incluir la fuente de financiación de la investigación que originó el artículo, como el código de la misma.

Literatura citada

- Se deben colocar en esta Sección sólo las referencias citadas. No más de 50 citas bibliográficas.
- La literatura se debe organizar en estricto orden alfabético.
- Las referencias deben citarse en el texto utilizando las normas APA.

PRODUCCIÓN EDITORIAL

Secretaría Técnica Comité Editorial,
revisión de textos y corrección de estilo: Sandra Milena Marín López, Ing. Agrónomo M.Sc.

Diseño y diagramación: Luz Adriana Álvarez Monsalve, Diseñadora Visual

Fotografías: Archivo Cenicafé

Impresión:

300 ejemplares

Para canjes con esta publicación dirigirse a:
Centro de Documentación
Centro Nacional de Investigaciones de Café - Cenicafé
Manizales - Caldas - Colombia
Biblioteca.Cenicafe@cafedecolombia.com



Cenicafé

Al servicio de los caficultores colombianos, desde 1938

www.cenicafe.org