



Universidad de Caldas

**EFFECTO DE LOS INSECTOS VISITANTES FLORALES EN LA
PRODUCCIÓN Y CALIDAD DEL CAFÉ**

TESIS QUE PRESENTA **JESÚS HERNANDO GÓMEZ LLANO**

PARA OBTENER EL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Manizales, Caldas, Colombia marzo de 2021



Universidad de Caldas

**EFFECTO DE LOS INSECTOS VISITANTES FLORALES EN LA
PRODUCCIÓN Y CALIDAD DEL CAFÉ**

TESIS QUE PRESENTA **JESÚS HERNANDO GÓMEZ LLANO**

PARA OBTENER EL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRIGIDA POR DR. **PABLO BENAVIDES M.**

Y CODIRIGIDA POR DR. **ZULMA NANCY GIL P.**

Manizales, Caldas, Colombia marzo de 2021

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios quien ha sido el motor de mi carrera y quien con amor sigue guiándome.

Al Centro Nacional de Investigaciones de café-Cenicafé-FNC, institución donde he tenido la oportunidad de crecer no solo como profesional sino como ser humano.

Agradezco a su vez a Bayer Bee Care Center -Alemania, por financiar este proyecto, institución que muestra su compromiso con los polinizadores, en especial por las abejas. Agradecimientos a su equipo, en especial a la Dra. Baerbel Hundt y al Dr. Christian Maus por los aportes y gestiones.

Agradecimientos especiales a la Dra. Juliana Jaramillo Salazar de Bayer Bee Care Center - Alemania, quien fue la gestora de este proyecto, contribuyó en las ideas iniciales y la estructuración de la estrategia metodológica, ¡sin su buena gestión no hubiera sido posible la realización de este trabajo!.

A la Dra. Esther Cecilia Montoya, por su dedicación y compromiso en la formulación de la propuesta y en el análisis de la información, nos acompañó de principio a fin.

A los coordinadores y personal de la Estación Central Naranjal y de la Estación Experimental La Catalina, quienes me apoyaron no solo en esta investigación, sino que me han aconsejado y guiado en pro de la culminación de este trabajo, a ellos y al personal de Acción Plus mis más grandes agradecimientos.

A las disciplinas de Calidad, Mejoramiento Genético, Fisiología, Agroclimatología y Biometría de Cenicafé; son un ejemplo de colaboración e interdisciplinariedad en la institución, sus líderes, y asistentes de investigación y auxiliares, haciendo mención a Juan Carlos Arias, Carlos Augusto Vera, Claudia Gallego, Valentina Osorio, Paola Calderón y Jenny Pabón quienes apoyaron la realización de este proyecto en todas sus etapas. Todos ellos fueron un gran apoyo para esclarecer muchas dudas y me colaboraron en la realización de este trabajo.

A mis compañeros de la disciplina de Entomología, a los auxiliares, quienes me ayudaron en diferentes etapas de este proyecto. Un especial agradecimiento a Luis Eduardo Escobar quien fue un gran apoyo y de manera incondicional.

Dentro de los investigadores quiero agradecer especialmente a Flor Edith Acevedo quien me guio en el inicio de esta investigación en la fase de campo y quien me inculco el amor por la ciencia y a no rendirme. A la investigadora Zulma Nancy Gil P., quien me apoyó en todo momento con una dirección ejemplar para mejorar cada día y me permitió convertirme en un mejor profesional, al igual gracias a ella y a sus consejos fue posible la culminación de este trabajo. A Marisol Giraldo J., quien me aconsejo siempre sobre qué camino tomar y a quien le debo mucho de mi futuro próximo y, por último, pero no menos importante a mi director Pablo Benavides M., quien me inculcó siempre su rigor por el método científico y cuyo consejo fue valioso en esta investigación.

Quiero realizar un agradecimiento especial a mi amigo y compañero tanto de laboratorio como de proyecto, Juan Diego Maldonado Cepeda, por sus contribuciones y ayuda en campo. Que con su ímpetu y personalidad me permitieron crecer en paciencia y amor al prójimo. ¡Ciencio te perdoné Juan!.

A mi familia: mi madre, mi padre, mis hermanos y hermanas y a mi abuela (la causante de que me guste la biología); a mi familia en las ciencias, mis compañeros del laboratorio de investigación en abejas (LABUN), a mi madre en las ciencias Guiomar Nates P. y a mi padre en las ciencias Rodolfo Ospina Torres.

Finalmente, aquellos que, directa o indirectamente, contribuyeron para la ejecución de este trabajo, mis más sinceros agradecimientos.

Dedicada a Dios “Jehová, roca mía y castillo mío, y mi libertador; Dios mío, fortaleza mía, en él confiaré; Mi escudo, y la fuerza de mi salvación, mi alto refugio” Salmo 18:2

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Excepto cuando es explícitamente indicado en el texto, el trabajo de investigación contenido en esta tesis fue efectuado por Jesús Hernando Gómez Llano como estudiante de la Maestría en Ciencias Biológicas, entre marzo de 2019 y marzo del 2021, bajo la supervisión y orientación de Pablo Benavides M. y Zulma Nancy Gil P.

Las investigaciones reportadas en esta tesis no han sido utilizadas anteriormente para obtener otros grados académicos, ni serán utilizadas para tales fines en el futuro.

Candidato(s):	Nombre	Jesús Hernando Gómez Llano

	Nombre	

		Pablo Benavides M.
Director(es) de tesis:	Nombre	

		Zulma Nancy Gil P.
	Nombre	

Resumen

Cerca del 70% de las plantas cultivadas en zonas tropicales se favorecen de la polinización animal. Es así como la especie *Coffea arabica* L. siendo autógama se beneficia de la polinización por insectos, no obstante, los datos son controversiales. El alcance de esta investigación fue determinar el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad del café. Para esto, en dos sitios de la zona central cafetera colombiana, en lotes de *C. arabica* var. Castillo[®] durante dos años se realizaron cinco evaluaciones, en estas se estimaron las variables de interés porcentaje de cuajamiento y la producción medida como peso total de los frutos en café cereza, derivado de un diseño experimental completamente aleatorio, se evaluaron ocho tratamientos, cada uno con 50 unidades experimentales. Los tratamientos se conformaron con flores emasculadas y sin emasculas en etapa de pre-antesis y en ellos se midió el efecto del viento, la gravedad, los insectos, autopolinización, polinización cruzada manual y autofertilización manual; en algunos se empleó la técnica de exclusión con mangas entomológicas. Complementariamente, se evaluó el peso total de las almendras tipo supremo como variable de calidad física y el aporte de los insectos visitantes florales en la calidad sensorial. Los resultados de este estudio mostraron, que las visitas de los insectos a las flores del café aumentan el cuajamiento de los frutos en un 16,3% y la producción en café cereza en un 26,9%. También contribuyen en un mayor peso de las almendras tipo supremo en un 30,6%. En cuanto al efecto en la calidad sensorial no se encontraron diferencias. Los resultados de esta investigación corroboran la importancia que tienen los insectos en los sistemas agrícolas y pese a que el café es una planta autógama, las visitas que realizan a las flores contribuyen a la producción que se recoge hoy en día en el país.

Palabras clave: café, calidad, *Coffea arabica*, insectos, producción, polinización, visitantes florales.

Contenido

Índice de tablas.....	9
Capítulo I.....	10
IMPORTANCIA DE LOS INSECTOS EN LA POLINIZACIÓN DE SISTEMAS AGRÍCOLAS	10
Introducción	10
El café (<i>Coffea arabica</i>).....	12
Pregunta de investigación.....	14
Hipótesis.....	14
Objetivo.....	14
Bibliografía.....	14
Capítulo II	20
EFFECTO DE LOS INSECTOS VISITANTES FLORALES EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DEL CAFÉ.....	20
1. Introducción	21
2.1 Área de estudio	24
2.2 Metodología	24
2.4 Análisis de la información	28
3 Resultados	29
4 Discusión.....	35
5 Consideraciones Finales.....	40
6 Apéndice.....	41
7 Bibliografía.....	43

Índice de tablas

Tabla 1. Descripción de los tratamientos para determinar el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad física del café.	25
Tabla 2. Promedios y error estándar para la variable porcentaje de frutos cuajados.	31
Tabla 3. Promedios y error estándar para la variable peso de los frutos en café cereza.	31
Tabla 4. Promedios y error estándar para la variable complementaria peso de las almendras tipo supremo.	32
Tabla 5. Abundancia y riqueza de abejas visitantes florales del café, registradas durante tres días de floración para las evaluaciones cuatro y cinco.	33
Tabla 6. Puntaje escala SCAA para cada uno de los tratamientos evaluados. Puntajes entre los 80 y los 84 puntos son considerados café Premium.	34
Tabla 7. Promedios y error estándar para la probabilidad de receptividad estigmática en las diferentes etapas florales.	35

Capítulo I

IMPORTANCIA DE LOS INSECTOS EN LA POLINIZACIÓN DE SISTEMAS AGRÍCOLAS

Introducción

Las Angiospermas se originaron durante el cretácico temprano alrededor de los 135 Ma, son hoy en día el grupo de plantas dominantes de los ecosistemas terrestres (Mejía et al. 2006). Este grupo está constituido por alrededor de 300.000 especies, distribuidas en 320 familias (Bremer et al. 2003) y su diversificación ha permitido que las formas y hábitos varíen en gran medida, por acontecimientos climáticos, geológicos e incluso presiones bióticas como son la herbivoría y el efecto de los polinizadores (Doyle 1994, 1996, 2006, Hilton and Bateman 2006, Soltis and Soltis 2014).

Las angiospermas son llamadas las plantas con flores y este órgano reproductivo les confiere ventajas evolutivas e intermedia en procesos de diversificación y especialización (Soltis and Soltis 2014). Además, la flor es uno de los principales ejes de la taxonomía vegetal y es la clave de la reproducción sexual. La reproducción sexual en las plantas ocurre por el fenómeno de la polinización, el cual no es más que el proceso en el cual el polen es llevado desde los estambres (órgano sexual masculino) al estigma (órgano sexual femenino), produciéndose la fecundación de los óvulos, dando origen al fruto (Willmer 2011).

Se reconocen dos tipos principales de polinización, la polinización cruzada o xenogamia, que ocurre cuando el polen tiene origen en otra planta y la autofecundación llamada autogamia, que ocurre cuando el polen tiene origen en la misma planta; siendo la xenogamia más exitosa que la autogamia (Darwin 1876, 1877, Carr 2013, Castric et al. 2014) dado a que evita la endogamia y produce una mayor variabilidad genotípica y fenotípica en poblaciones naturales (Pérez de Paz 2017). Es por esto, que las angiospermas evitan la autogamia mediante dos mecanismos; por dioecia, con flores unisexuales en plantas o individuos diferentes (masculinos y femeninos) y por auto-incompatibilidad parcial o total para producir fruto por autopolinización (Pérez de Paz 2017).

Para que la polinización cruzada tenga lugar, se necesita un vector, el cual puede ser abiótico (el viento, la gravedad o el agua), o biótico como son los animales, los cuales pueden ser desde insectos, aves, reptiles hasta mamíferos, estos son comúnmente llamados polinizadores (Willmer 2011). En cuanto a la polinización mediada por factores abióticos, cerca del 98% de las plantas son polinizadas por el viento, este fenómeno es llamado anemofilia (Cox 1991). La mayoría de estas plantas también son polinizadas por vectores bióticos, lo que indica que ambos tipos de polinización pueden ocurrir simultáneamente en una misma planta (Cox 1991, Mahy et al. 1998, Friedman and Barrett 2008).

Cerca del 87,5% de las plantas con flores, son polinizadas por vectores animales (Ollerton et al. 2011), estas han generado adaptaciones para atraer a los polinizadores como son la producción de néctar y de polen como recurso alimenticio; de igual forma, colores y olores como señales visuales y olfatorias lo que facilita su encuentro (Willmer 2011). Dentro de la estructura y morfología floral también se encuentran adaptaciones ligadas a determinados polinizadores, como corolas largas que solo permiten el acceso al recurso a polinizadores con pico y lengua larga, diferentes tamaños a los que solo un pequeño grupo de polinizadores podría acceder y coloraciones específicas que atraen a ciertos grupos de forma exclusiva (Willmer 2011).

Los polinizadores son considerados importantes para el sector agrícola, cerca del 35% de la producción global alimentaria, depende en algún grado de la polinización cruzada (Klein et al. 2007). En Europa Williams (1994) analizó 264 especies de plantas cultivadas y concluyó que cerca del 84% de estas, dependen de la polinización animal, mientras que en cultivos tropicales el 70% de las 1.330 se ven favorecidas (Klein et al. 2007, Chautá-Mellizo et al. 2012). Se ha demostrado que la polinización animal tiene un efecto en el cuajamiento de los frutos y el rendimiento del cultivo (Garibaldi et al. 2016), lo que trasciende a un valor económico de la polinización que supera los 153 billones de euros o al 9,5% de la producción agrícola global (Vilhena et al. 2012, Ricou et al. 2014).

El 67% de las plantas con flores son polinizadas por insectos, por lo que se les atribuye como el grupo de polinizadores más importantes en plantas silvestres y cultivadas (Bonilla 2012, Fründ et al. 2013), dentro de este grupo se destacan las abejas, las cuales son visitantes florales estrictos, ya que su supervivencia depende completamente de los recursos que proveen las flores (néctar y polen) para su alimentación y reproducción (CGEE 2017). A su vez, diferentes estudios relatan la

importancia de las abejas en la polinización de sistemas agrícolas y su efecto como visitantes florales (Breeze et al. 2011, Garibaldi et al. 2013, 2016, Giannini et al. 2015).

Cultivos como las manzanas, calabazas y algunas pasifloras necesitan la polinización cruzada, ya que presentan autoincompatibilidad (Greenleaf and Kremen 2006, Mensah and Kudom 2011, Rodríguez 2014). Mientras que otras especies cultivadas como el aguacate, algodón y el café, a pesar que son autógamas, se ven beneficiadas por el servicio de polinización que proveen los insectos, especialmente las abejas, teniendo un efecto en el aumento de la producción y un mayor tamaño de los frutos (Greenleaf and Kremen 2006, Vergara and Badano 2009, Badano and Vergara 2011, Pérez-Balam et al. 2012, Pires et al. 2014).

Dentro de estos cultivos uno de los más estudiados en cuanto al efecto de los polinizadores, ha sido el café, principalmente dos especies *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* Pierre ex. A. Froehner (Rubiaceae), los cuales representan el 66% y 34% respectivamente de la producción mundial (Somarriba et al. 2004, Camargo 2009). *C. canephora* es una especie autoincompatible, por lo tanto, para la producción de frutos depende de la polinización cruzada mediada por insectos, principalmente las abejas (Belavadi et al. 2005), mientras que *C. arabica* es una especie autógama, no obstante, se ha comprobado que la polinización mediada por abejas aumenta la producción (Amaral 1960).

El café (*Coffea arabica*)

El género *Coffea* L. 1753, pertenece a la familia Rubiaceae compuesta por 103 especies descritas, de estas, 41 son originarias de África, 59 se encuentran en la isla de Madagascar y al menos tres, tienen origen en las islas Mascarenas (Herrera and Cortina 2013). Actualmente el género *Coffea* se encuentra en cerca de 85 países, entre estos algunos son tropicales y subtropicales y algunas especies pueden llegar a crecer desde los 3 m hasta los 12 m de altura.

Para que ocurra la floración en las especies de este género, es necesario que se produzcan periodos de oscuridad, al igual que periodos de sequía y cambios en la temperatura (Ngo et al. 2011, Flórez et al. 2013). Típicamente las flores tienen origen axilar, donde pueden converger hasta 12 unidades florales. En cuanto a la morfología, se evidencian flores pentámeras, con presencia de cinco estambres cortos y un estigma bilobulado (Ngo et al. 2011, Flórez et al. 2013). Los frutos son drupas que se caracterizan por una cubierta suave la cual rodea una semilla dura (Ngo et al. 2011).

Dentro de las principales especies del género *Coffea* se encuentra *C. arabica*, la cual se originó de la hibridación entre *C. canephora* y *Coffea eugenioides* S. Moore, hace 50.000 años. Esta especie es alotetraploide (tiene cuatro sets de cromosomas) (Flórez et al. 2013, Herrera and Cortina 2013). Se caracteriza por ser una planta autógama, que se autopoliniza y generalmente no supera los 5 m de altura, crece mejor entre los 1.200 y 1.800 m.s.n.m, y en temperaturas entre los 18 y 21°C (Flórez et al. 2013). La apertura floral ocurre en las horas de la mañana y puede llegar a durar 1 o 2 días después de ser polinizada, no obstante, si no es polinizada puede llegar a permanecer hasta 5 días (Ngo et al. 2011). La maduración de sus frutos puede ocurrir entre 7 y 10 meses posteriores al periodo de floración (Eira et al. 2006). A pesar de su autogamia, es visitada por polinizadores, principalmente abejas, siendo la más frecuente la especie *Apis mellifera* L.1758 (Hymenoptera: Apidae) (Klein et al. 2003a, 2003b).

En consecuencia, Amaral (1960) encontró que las ramas expuestas a los polinizadores difieren en un 13,6% en cuajamiento frente a ramas donde estos se excluyeron. Badilla y Ramírez (1991) investigaron el efecto de la polinización de los insectos en *C. arabica* var. catuí rojo en Costa Rica, encontrando que los tratamientos expuestos a la visita por estos artrópodos, tenían un porcentaje de cuajamiento mayor que los tratamientos donde estos eran excluidos, atribuyéndole a los insectos un 15,85% del cuajamiento. Otro estudio realizado por Roubik (2002) reporta que, en Panamá, la abeja *Apis mellifera scutellata* incrementa la producción de *C. arabica* en un 50%. Mientras tanto, Klein et al. (2003a) en Indonesia determinó que los tratamientos expuestos a las visitas de las abejas difirieron significativamente de los tratamientos donde fueron excluidas, atribuyéndoles, un efecto en el aumento del cuajamiento del 12,3% en *C. arabica*.

En Colombia se ha dado poca importancia a los estudios relacionados con la polinización cruzada en café, esto debido a que la especie *C. arabica* que es la más cultivada en el país se autopoliniza (Arcila 2007). No obstante, Castillo (1976) estableció que, en el café la proporción de frutos que se derivan de este tipo de polinización se mantiene por debajo del 10%; más tarde Jaramillo (2012) encontró, que la polinización mediada por los insectos, especialmente abejas, ayudan a disminuir el número de abortos florales en *C. arabica*, y contribuyen en un mayor tamaño del fruto y una mayor concentración de azúcares (grados brix) en la pulpa, asegurando que la polinización cruzada cumple un papel relevante en la producción y calidad.

En Colombia, el café se considera la base agrícola del país, representa el 22% del producto interno bruto (PIB) del sector. Sólo en el 2019 la producción alcanzó los 14,7 millones de sacos de 60 kg y ventas equivalentes a \$7,2 billones de pesos, aunque en el año 2020 esta producción bajó a 13,9 millones de sacos (FNC 2021). En consecuencia, es importante esclarecer si los insectos están participando en esta producción, tema controversial a lo largo de los años, debido a la autogamia de la planta del café, y los pocos estudios realizados en Colombia aún no logran dilucidarlo, aunque son relevantes y dan indicios que los insectos si pueden contribuir. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad del café.

Pregunta de investigación

¿Los insectos visitantes florales aumentan el cuajamiento de los frutos, la producción y mejoran la calidad del café?

Hipótesis

Los insectos visitantes florales aumentan el cuajamiento de los frutos y la producción del café en más del 10%, y mejoran la calidad.

Objetivo

Determinar el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad del café.

Bibliografía

Amaral, E. 1960. Influence of insects on pollination of caturra coffee. *Rev. Agric* **35**:139-147.

Arcila, J. 2007. Crecimiento y desarrollo de la planta de café. Pages 21-60 in H. F. Ospina, and S. M. Marín editors. *Sistemas de producción de café en Colombia*. Cenicafé, Chinchiná, Caldas, Colombia.

Badano, E. I., and C. H. Vergara. 2011. Potential negative effects of exotic honey bees on the diversity of native pollinators and yield of highland coffee plantations. *Agricultural and Forest Entomology* **13**:365-372.

- Badilla, F., and B. W. Ramírez. 1991. Polinización de café por *Apis mellifera* L. y otros insectos en Costa Rica. *Turrialba* **41**(3):285- 288.
- Belavadi, V. V., C. Parvathi, M. P. Venkatesha, and Honnalingappa. 2005. Significance of flower visitors for pollination and fruit set in coffee. *Indian Bee Journal* **67**:3-4.
- Bonilla, M. A. 2012. La polinización como servicio ecosistémico. Pages 1-103 in Iniciativa colombiana de polinizadores (ICPA) editor. *Capítulo I: abejas*. Universidad Nacional de Colombia. Instituto Humboldt. Bogotá, Colombia.
- Breeze, T. D., A. P. Bailey, K. G. Balcombe, and S. G. Potts. 2011. Pollination services in the UK: How important are honey bees. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **142**:137-143.
- Bremer, K., B. Bremer, and M. Thulin. 2003. *Introduction to Phylogeny and Systematics of Flowering Plants*. Department of Systematic Botany Evolutionary Biology Centre. Uppsala University. Upsala, Suecia.
- Camargo, M.B.P. D. 2009. The impact of climatic variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. *Bragantia* **69**(1):239-247.
- Carr, D. E. 2013. A multidimensional approach to understanding floral function and form. *American Journal of Botany* **100**(6):1102-1104.
- Castillo Z, J. 1976. Tasa de polinización cruzada del café Arábigo en la región de Chinchiná. *Revista Cenicafé* **27**(02):78-88.
- Castric, V., S. Billiard, and X. Vekemans. 2014. Trait Transitions in Explicit Ecological and Genomic Contexts: Plant Mating Systems as Case Studies. Pages 7-36 in C. R. Landry, and N. Aubin-Horth editors. *Ecological Genomics: Ecology and the Evolution of Genes and Genomes Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer Science Business Media. Dordrecht.
- Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE). 2017. *Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global*. Brasília-DF.
- Chautá-Mellizo, A., S. A. Campbel, M. A. Bonilla, J. S. Thaler, and K. Poveda. 2012. Effects of natural and artificial pollination on fruit and offspring quality. *Basic and Applied Ecology* **13**:524-532.
- Cox, P. A. 1991. Abiotic pollination: an evolutionary escape for animal-pollinated angiosperms. *Phil Trans Roy Soc London B* **33**:217-24.

- Darwin, C. 1876. *The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom*. John Murray. London.
- Darwin, C. 1877. *The different forms of flowers on plants of the same species*. John Murray. London.
- Doyle, J. A. 1994. Origin of the angiosperm flower: A phylogenetic perspective. *Plant Systematics and Evolution* (Supplement) **8**:7-29.
- Doyle, J. A. 1996. Seed plant phylogeny and the relationships of Gnetales. *International Journal of Plant Sciences* **157**:S3-S39.
- Doyle, J. A. 2006. Seed ferns and the origin of angiosperms. *Journal of the Torrey Botanical Society* **133**:169-209.
- Eira, M.T.S., E. A. Amaral da Silva, R. D. De Castro, S. Dussert, C. Walters, J. D. Bewley, and H.W.M. Hilhorst. 2006. Coffee seed physiology. *Braz. J. Plant Physiology* **18**(1):149-163.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia-FNC. 2021. Producción de café en Colombia en 2020 fue de 13,9 millones de sacos. <https://federaciondecafeteros.org/wp/listadonoticias/produccion-de-cafe-de-colombia-en-2020-fue-de-139-millones-de-sacos/>. (02/02/2021)
- Flórez, C. P., L. N. Ibarra, L. F. Gómez, C. Y. Carmona, A. Castaño, and A. Ortiz. 2013. Estructura y funcionamiento de la planta de café. Pages 123-168 in Cenicafé - Federación Nacional de Cafeteros de Colombia-FNC editor. *Manual Cafetero Colombiano. Primera Edición. Tomo I*. LEGIS. Colombia.
- Friedman, J., and S. C. H. Barrett. 2008. A phylogenetic analysis of the evolution of wind pollination in the angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **169**:49-58.
- Fründ, J., C. F. Dormann, A. Holzschuh, and T. Tscharntke. 2013. Bee diversity effects on pollination depend on functional complementarity and niche shifts. *Ecology* **94**(9):2042-2054.
- Garibaldi, L. A. 2013. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* **339**:1608-1611
- Garibaldi L. A., et al. 2016. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science* **351**:388-391.

- Giannini, T. C. et al. 2015. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie* **46**:209-223.
- Greenleaf, S. S., and C. Kremen. 2006. Wild bee species increase tomato production and respond differently to surrounding land use in Northern California. *Biological Conservation* **133**:81-87.
- Herrera, P. J. C., and G. H. A. Cortina. 2013. Taxonomía y clasificación del café. Pages 117-121 in Cenicafé - Federación Nacional de Cafeteros de Colombia-FNC editor. *Manual Cafetero Colombiano. Primera Edición. Tomo 1*. LEGIS, Colombia.
- Hilton, J., and R. M. Bateman. 2006. Pteridosperms are the backbone of seed-plant phylogeny. *Journal of the Torrey Botanical Society* **133**:119-168.
- Jaramillo, A. 2012. Efecto de las abejas silvestres en la polinización del café (*Coffea arabica*: Rubiaceae) en tres sistemas de producción en el departamento de Antioquia. Tesis, Universidad Nacional sede Medellín, Medellín, Antioquia, Colombia.
- Klein, A. M., I. Steffan-Dewenter, and T. Tscharntke. 2003a. Bee pollination and fruit set of *Coffea arabica* and *C. canephora*(Rubiaceae). *American Journal of Botany*. **90**(1):153-157.
- Klein, A. M., I. Steffan-Dewenter, and T. Tscharntke. 2003b. Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the royal society B: biological sciences*. **270**(1518):955-961.
- Klein, A. M., B. E. Vaissiere, J. H. Cane, J. H. I. Steffan-Dewenter, S. A. Cunningham, C. Kremen, and T. Tscharntke. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences* **274**(1608):303-313.
- Mahy, G., J. de Sloover, and A. L. Jacquemart. 1998. The generalist pollination system and reproductive success of *Calluna vulgaris* in the Upper Ardenne. *Canadian Journal of Botany* **76**:1843-51.
- Mejía, P., D. Dilcher, and C. Jaramillo. 2006. Early angiosperm evolution in tropical latitudes. *Palynology* **30**:222.
- Mensah, B. A., and A. A. Kudom. 2011. Foraging dynamics and pollination efficiency of *Apis mellifera* and *Xylocopa olivacea* on *Luffa aegyptiaca* Mill (Cucurbitaceae) in Southern Ghana. *Journal of Pollination Ecology* **4**(5):34-38.
- Ngo, H. T., A. C. Mojica, and L. Packer. 2011. Coffee plant-pollinator interactions: a review. *Canadian Journal of Zoology* **89**(8):647-660.

- Ollerton, J., R. Winfree, and S. Tarrant. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos* **120**(3):321-326.
- Pérez de Paz, J., R. Febles, O. F. P. Acosta, and M. O. Corral. 2017. Flores y polen. Éxito reproductivo de las angiospermas en Canarias. Origen, evolución y conservación. *Revista de la Academia Canaria de Ciencias* **29**:111-202.
- Pérez-Balam, J., J. J. G. Quezada-Euán, R. Alfaro-Bates, S. Medina, L. McKendrick, A. Soro, and R. J. Paxton. 2012. The contribution of honey bees, flies and wasps to avocado (*Persea americana*) pollination in Southern Mexico. *Journal of Pollination Ecology* **8**(6):42-47.
- Pires, V. C., F. A. Silveira, E. R. Sujii, K. R. S. Torezani, W. A. Rodrigues, F. A. Albuquerque, S. M. M. Rodrigues, A. N. Salomão, and C. S. S. Pires. 2014. Importance of bee pollination for cotton production in conventional and organic farms in Brazil. *Journal of Pollination Ecology* **13**(16):151-160.
- Ricou, C., C. Schneller, B. Amiaud, S. Plantureux, and C. Bockstaller. 2014. A vegetation-based indicator to assess the pollination value of field margin flora. *Ecological Indicators* **45**:320-331.
- Rodríguez, A. T. 2014. Requerimientos y valor económico del servicio de polinización prestado por abejas en dos frutales promisorios colombianos, (*Champa Campomanesia lineatifolia* Ruiz and Pav. y *Cholupa Passiflora maliformis* L.). Thesis, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C, Colombia.
- Roubik, D. W. 2002. African honeybees augment neotropical coffee yield. Pages 255-266 In P.G. Kevan and V.L. Imperatriz- Fonseca. *Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature*. Ministry of Environment. Brasilia, Brasil.
- Soltis, P. S., and D. E. Soltis. 2014. Flower Diversity and Angiosperm Diversification. *Methods in Molecular Biology* **1110**:85-102.
- Somarriba, E., C. A. Harvey, M. Samper, F. Anthony, J. Gonzalez, C. Staver, and R. A. Rice. 2004. Biodiversity conservation in neotropical coffee (*Coffea arabica*) plantations. Pages 198-226 in G. Schroth, G. A. B. da Fonseca, C. A. Harvey, C. Gascon, H. L. Vasconcelos, and A. M. N. Izac. *Agroforestry and biodiversity conservation in tropical landscapes*. Island Press. Washington-D.C.

- Vergara, C. H., and E. I. Badano. 2009. Pollinator diversity increases fruit production in Mexican coffee plantations: The importance of rustic management systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **129**:117-123.
- Vilhena, A. M., L. Rabelo, E. M. Bastos, and S. C. Augusto. 2012. Acerola pollinators in the savanna of Central Brazil: temporal variations in oil-collecting bee richness and a mutualistic network. *Apidologie* 43:51-62.
- Williams, I. H. 1994 The dependences of crop production within the European Union on pollination by honey bees. *Agricultural Zoology Reviews* **6**:229-257.
- Willmer, P. G. 2011. *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press.

Capítulo II

EFFECTO DE LOS INSECTOS VISITANTES FLORALES EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DEL CAFÉ

Jesús Hernando Gómez LL.; Juan Diego Maldonado C.; Zulma Nancy Gil P.; Flor Edith Acevedo; Pablo Benavides M.

Resumen

Los insectos son los principales polinizadores de la mayoría de los cultivos agrícolas; sin embargo, no está clara su contribución en las plantas autógamas como el café. Este estudio determinó el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad del café. Con este fin, se seleccionaron dos sitios en la zona central cafetera colombiana y durante dos años en lotes de *Coffea arabica* var. Castillo[®], se estimaron las variables de respuesta porcentaje de frutos cuajados y peso de los frutos en café cereza como medida de la producción, y como variable complementaria el peso de las almendras tipo supremo. Para esto, se realizaron cinco evaluaciones, en cada una se seleccionaron aleatoriamente 400 árboles, los cuales se distribuyeron en ocho tratamientos diseñados para evaluar el efecto de diferentes tipos de polinización. Para determinar el efecto en la calidad sensorial se seleccionaron 250 árboles, por cada uno se tomaron cuatro ramas, y sobre ellas se evaluaron los tratamientos ramas expuestas y ramas donde se excluyeron a los insectos, a partir de la semana 32 se recolectaron los frutos en grupos compuestos de 50 árboles por tratamiento, se beneficiaron y se analizó la calidad en taza con la escala SCAA. Los resultados mostraron, que las visitas de los insectos a las flores del café aumentan el cuajamiento de los frutos en un 16,3% y a su vez la producción en café cereza en un 26,9%. También confieren mayor calidad física a las almendras, representada en mayor peso de las almendras tipo supremo de 30,6%; mientras que para la calidad sensorial no se encontraron diferencias. Estos resultados constituyen una evidencia experimental que la presencia de insectos visitantes florales aumenta la producción y calidad física del café.

Palabras clave: café, calidad, *Coffea arabica*, cuajamiento, insectos, visitantes florales.

Abstract

Insects are the main pollinators of most agricultural crops; however, its contribution to self-pollinated plants such as coffee is unclear. This study determined the effect of visiting floral insects on fruit set, production and coffee quality. To this, two sites were selected in the central Colombian coffee zone for two years in lots of *Coffea arabica* var. Castillo[®], the response variables percentage of fruit set and fruit weight in cherry coffee were estimated as a measure of production, and as a complementary variable the weight of the supreme type almonds. For this, five evaluations were carried out, in each one 400 trees were randomly selected, which were distributed in eight treatments designed to evaluate the effect of different types of pollination. To determine the effect on sensory quality, 250 trees were selected, for each one four branches were taken, and the treatments exposed branches and branches where insects were excluded were evaluated, later from week 32 the fruits were collected in groups composed of 50 trees per treatment were benefited and the cup quality was analyzed with the SCAA scale. The results showed that the visits of the insects to the coffee flowers increase the fruit set by 16.3% and increase the production in cherry coffee by 26.9%. respectively. Also confer greater physical quality to the almonds, represented in greater weight of the supreme type almonds in 30.6%; while for sensory quality no differences were found. These results constitute experimental evidence that the presence of visiting floral insects increases coffee production, and physical quality.

Key words: coffee, *Coffea arabica*, insects, floral visitors, fruit set, quality

1. Introducción

Los polinizadores son importantes para el sector agrícola y cerca del 35% de la producción global alimentaria depende en algún grado de la polinización animal (Klein et al. 2007). No obstante, el 60% de la producción agrícola mundial, proviene de cultivos que no necesitan la polinización para la formación del fruto, pero aun así algunos de estos se ven beneficiados por la polinización cruzada, aumentando el cuajamiento de los frutos y el rendimiento del cultivo (Garibaldi et al. 2016). Muchas de estas plantas son completamente autógamas y en muchas de estas queda por esclarecer el por qué pueden beneficiarse de la polinización animal (Esquivel et al. 2021), algunos estudios ecológicos sugieren que esto puede explicarse bajo la hipótesis de seguridad reproductiva,

la cual postula que se favorece la autopolinización en plantas con flores donde los polinizadores pueden ser escasos, al igual la condición de autopolinización puede variar dependiendo de la abundancia y riqueza de polinizadores (Darwin 1876, Kalisz and Vogler 2003).

Dentro de los polinizadores más frecuentes en estos cultivos, se encuentran las abejas, siendo *Apis mellifera* L.1758 (Hymenoptera: Apidae) una de las especies más frecuentes, esta a su vez es considerada como el polinizador económicamente más valioso en diversos cultivos agrícolas (Esquivel et al. 2021). Sin esta especie, el rendimiento de algunos cultivos de frutas, semillas y nueces puede disminuirse en un 90% (Southwick and Southwick 1992). Sin embargo, estudios recientes, también destacan el valor de la riqueza y abundancia de otras especies de abejas en la polinización de ciertos cultivos, superando los rendimientos aportados por *A. mellifera* (Garibaldi et al. 2014).

El café *Coffea arabica* L. se caracteriza por presentar una alta calidad en taza (DaMatta et al. 2007), todas sus variedades son autocompatibles, con flores que se autopolinizan, no obstante, algunos estudios relacionan la polinización por insectos con un aumento en la producción y rendimiento del cultivo. Amaral (1952, 1960) encontró en plantas de café *C. arabica* variedad Caturra KMC[®] que cuando las ramas se dejan expuestas, los insectos serían responsables entre el 13,6% y el 39,2 % del aumento en el cuajamiento, comparado con ramas excluidas de los polinizadores; mientras que Sein (1959) encontró un 60% de cuajamiento en flores excluidas de los insectos frente a un 70% en flores expuestas; posteriormente Badilla y Ramírez (1991) encontraron un aumento en el cuajamiento del 15,85% en *C. arabica* variedad Catuí rojo, atribuido a la polinización por insectos. Roubik (2002a) reporta que, en Panamá, la abeja *A. mellifera scutellata* incrementa la producción de *C. arabica* en un 50% mientras tanto, Klein et al. (2003a) en Indonesia determinó que los tratamientos expuestos diferían significativamente de los tratamientos donde las abejas eran excluidas, atribuyéndoles, un efecto en el aumento del cuajamiento del 12,3% en *C. arabica*. Al igual algunos estudios encontraron un mayor peso de los frutos de café cuando las flores fueron expuestas a los polinizadores (Roubik 2002a, 2002b, De Marco and Coelho 2004, Ricketts et al. 2004), incluso se le ha atribuido a la polinización por abejas un aumento en la calidad del café en taza, mejorando características de sabor y aroma (Karanja et al. 2013).

Dentro de los principales polinizadores de *C. arabica* se encuentran las abejas, siendo la más frecuente la especie *A. mellifera* (Roubik 2002a, 2002c, Klein et al. 2003a, 2003b). Sin embargo,

la participación de otras especies de abejas, tanto sociales como solitarias, llegan a ser de gran relevancia para el cultivo del café (Klein et al. 2003a).

En Colombia, Castillo (1976) establece que, en *C. arabica* variedad Cera, la proporción de frutos que se derivan de la polinización mediada por los insectos se mantiene por debajo del 10% y en pocas ocasiones sobrepasa este valor sin superar el 20%; sin embargo, el autor aclara que los resultados de su estudio estuvieron afectados por las siguientes condiciones: a. Las colecciones de la variedad Cera fueron cultivadas bajo sombra de árboles del género *Inga*, mientras que los experimentos se mantuvieron a libre exposición; b. Las distancias de siembra fueron de 3,2 m por 3,2 m en las colecciones de la variedad Cera y de 1,5 por 3,0 metros en los experimentos; y c. El tamaño de las muestras evaluadas fue variable y los tratamientos fueron encerrados en bolsas de papel que modificaron las condiciones de temperatura y humedad. Por lo que el mismo autor concluye, que los datos de su investigación constituyen un índice de la frecuencia de la polinización cruzada, pero no una medida exacta de ella.

Posteriormente Arcila (2007) menciona que en *C. arabica* la autopolinización ocurre en un 90% antes de que las flores abran. Más tarde Jaramillo (2012) en un estudio exploratorio, encontró que la polinización mediada por insectos en *C. arabica* ayuda a disminuir el número de frutos abortados, también contribuye en un mayor tamaño del fruto y una mayor concentración de azúcares (grados brix) en la pulpa del fruto, lo que podría aumentar la calidad del café. Por último, Bravo-Monroy et al. (2015) en el departamento de Santander, Colombia, reportó un incremento del 10,5% en el cuajamiento final en flores que fueron expuestas a agentes polinizadores, frente a aquellas que fueron excluidas de estos. Sin embargo, los estudios realizados en Colombia, no esclarecen aún el efecto de los insectos visitantes florales en el cultivo del café, al igual gran parte de las investigaciones mencionadas cuentan con un número de muestra bajo y una repetitividad limitada, a pesar de esto, son relevantes y dan un indicio de los efectos de la polinización por parte de los insectos en el cultivo del café. Es por esto, que se hace necesario determinar el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad del café.

2. Materiales y métodos

2.1 Área de estudio

Este estudio se realizó en dos estaciones experimentales del Centro Nacional de Investigaciones de café- Cenicafé. La Estación Central Naranjal, ubicada en el municipio de Chinchiná (Caldas) en la zona central cafetera colombiana (4°58' N; 75°39' W), cordillera Central, vertiente Occidental. Esta estación tiene una altitud de 1.381 m., temperatura promedio de 21,6 °C, humedad relativa promedio de 80,6%, precipitación anual de 2.990 mm y promedio de brillo solar de 1.537 horas/año (Cenicafé 2020). En este sitio, el café tiene dos floraciones principales al año; una en el primer semestre que da origen al 65% de la cosecha, denominada cosecha principal y otra en el segundo semestre que origina el 35% restante, denominada cosecha de mitaca (Flórez et al. 2013).

La Estación Experimental La Catalina, ubicada en el municipio de Pereira (Risaralda) en la zona central cafetera colombiana (4°45' N; 75°44' W), cordillera Central, vertiente Occidental. Esta estación tiene una altitud de 1.321 m., temperatura promedio de 22,1°C, humedad relativa promedio de 78,9%, precipitación anual de 2.464 mm y promedio de brillo solar de 1.588 horas/año (Cenicafé 2020). En esta estación, el café tiene dos floraciones principales al año; una en el primer semestre que da origen al 75% de la cosecha, denominada cosecha principal y otra en el segundo semestre que origina el 25% restante, denominada cosecha de mitaca (Flórez et al. 2013).

2.2 Metodología

Para determinar el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad del café, entre los años 2018 y 2020 se realizaron cinco evaluaciones en las floraciones de cosecha principal y de mitaca. Para esto, en las áreas de estudio se seleccionaron lotes de *C. arabica* var. Castillo[®], a libre exposición solar, con un área mínima de 0,5 hectáreas, edades entre dos y tres años (etapa productiva) y una densidad de siembra de 5.000 plantas por hectárea.

Para el encerramiento de las ramas se usaron dos tipos de mangas entomológicas, unas de tela muscelina, dado que este tejido presenta una abertura entre hilos de 0,5 a 0,7 mm, los cuales solo permiten el paso de granos de polen de café, que tienen un diámetro aproximado de 0,03 mm; y las

otras fueron de género de 300 hilos el cual tienen una abertura máxima entre hilos de 0,01 mm, lo cual no permite el paso de granos de polen de café.

En cada evaluación en los lotes seleccionados, se escogieron 400 árboles de café, los cuales se distribuyeron en ocho tratamientos (Tabla 1), diseñados para evaluar el efecto que tienen los insectos visitantes florales y los demás tipos de polinización en el cuajamiento, la producción y la calidad física del café. La unidad experimental estuvo conformada por el árbol y por cada tratamiento se evaluaron 50 unidades experimentales, distribuidas aleatoriamente.

Antes de aplicar los tratamientos, en cada unidad experimental, en la zona productiva se tomó una rama con botones florales y se dejó en ella solo aquellos que estaban en etapa de pre-antesis y se contaron, los que no presentaron esta característica se retiraron al igual que los frutos y primordios florales.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos para determinar el efecto de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos, la producción y la calidad física del café.

Efecto a medir	Tratamiento
Efecto de la polinización sin la participación de los insectos.	T1. Ramas de café encerradas en mangas que permiten entrar (polinización por viento, polen, pero no insectos (tela muscelina). gravedad y autopolinización).
Efecto del viento y la gravedad en la polinización de flores del café.	T2. Ramas de café emasculadas, encerradas en mangas que permiten entrar polen, pero no insectos (tela muscelina).
Efecto de la autopolinización.	T3. Ramas de café encerradas en mangas que no permiten la entrada de polen ni de insectos (género de 300 hilos).
Polinización natural con participación de los insectos.	T4. Ramas expuestas, sin encerrar

Efecto del viento, la gravedad y los insectos en la polinización de flores del café.	T5. Ramas emasculadas, expuestas, sin encerrar
Control del procedimiento de emasculación	T6. Ramas emasculadas y encerradas en mangas que evitan la entrada de polen e insectos (género de 300 hilos).
Efecto de la polinización cruzada manual.	T7. Polinización manual con polen de otras plantas. Ramas emasculadas, encerradas en mangas que evitan la entrada de polen e insectos (género de 300 hilos).
Efecto de la autofertilización manual.	T8. Polinización manual con polen de la misma planta. Ramas emasculadas, encerradas en mangas que evitan la entrada de polen e insectos (género de 300 hilos).

Las mangas se retiraron ocho días después de aplicados los tratamientos y posteriormente, cada quince días se limpiaron las ramas tratadas para eliminar los botones florales que se fueran formando. A los 90 días posteriores a la floración, se evaluó por cada tratamiento, el porcentaje de frutos cuajados como una de las variables de respuesta, teniendo en cuenta la relación entre el número de botones florales iniciales y el número de frutos formados.

Posteriormente, a partir de las 32 semanas después de la floración, en cada rama tratada se recolectó en diferentes pases de cosecha el café maduro y se evaluó la segunda variable de respuesta, peso de los frutos en café cereza como medida de la producción. Después se benefició el café (despulpado, desmucilaginado, secado mecánico y trillado) con el fin de evaluar la variable complementaria, peso de las almendras tipo supremo como una medida de la calidad física del grano, esto se hizo con mallas circulares de 17/64 pulgadas (Puerta 2016).

Como información adicional, en las evaluaciones cuatro y cinco, se evaluó la riqueza y abundancia de los insectos visitantes florales del café, desde la antesis hasta el tercer día de floración, para esto, en cada lote donde se evaluó el porcentaje de cuajamiento y la producción, se seleccionaron aleatoriamente 90 árboles de los que no estaban tratados y se recolectaron todos los insectos

visitantes florales del café en 30 árboles por día, en los horarios: 7:00 a.m.- 9:30 a.m., 10:30 a.m. - 12:00 m. y 2:00 p.m. - 4:30 p.m., en intervalos de ocho minutos por cada árbol.

Los insectos capturados se depositaron y rotularon en viales de vidrio conteniendo etanol al 76%, se trasladaron al laboratorio de la disciplina de Entomología del Centro Nacional de Investigaciones de Café- Cenicafe, y se identificaron bajo un estereomicroscopio marca Nikon SMZ 1500, siguiendo las claves taxonómicas propuestas por Borror et al. (1989) para las principales órdenes y familias de insectos, también se usaron las claves propuestas por Buck et al. (2009) para las familias de Díptera y Nieves et al. (2006) para las familias de Hymenoptera. Para los géneros de abejas, se usaron las claves propuestas por Michener (2007), y se identificaron algunas especies de abejas sin aguijón usando las claves propuestas por Albuquerque and Camargo (2007) y Jaramillo et al. (2019). Por cada evaluación se contabilizó el número de especies y el número de individuos por especie.

Como estudio complementario se evaluó el efecto de los insectos visitantes florales en la calidad sensorial del café, para esto, en la Estación Central Naranjal se seleccionó un lote de 0,5 hectáreas, sembrado con *C. arabica* var. Castillo[®]. Aleatoriamente se seleccionaron 250 árboles, agrupados de a 50, formando así cinco grupos. En cada árbol se seleccionaron cuatro ramas que presentaran botones florales en etapa de pre-antesis, dos de estas se encerraron en mangas entomológicas de tela muscelina para no permitir el paso de los insectos, las otras dos ramas restantes se marcaron y se dejaron a libre exposición.

Una semana después de aplicados los tratamientos las mangas se retiraron, posteriormente entre las semanas 32 y 36 se recolectó el café maduro, en grupos de 50 árboles por tratamiento, para un total de cinco muestras compuestas. Cada muestra se benefició, tostó y molió en condiciones homogéneas y se evaluó la calidad sensorial en taza como variable complementaria, esto se hizo con base en la escala SCAA (Specialty Coffee Association of America).

2.3 Receptividad estigmática y presencia del polen

De manera informativa y preliminar, se evaluó la receptividad estigmática en flores de café con el método de polinización cruzada manual (Dafni et al. 2005) y la presencia de polen en las anteras. Para esto, en la Estación Central Naranjal se seleccionó un lote de *C. arabica* var. Castillo[®], con un área de 0,5 hectáreas, de tres años de edad y en etapa de floración.

Para evaluar la receptividad estigmática, se seleccionaron aleatoriamente 40 árboles, con el fin de tener diez para cada estado de floración (pre-antesis, antesis, día 1 posterior a la antesis y día dos posterior a la antesis). En cada árbol se escogió una rama con botones florales en pre-antesis, los que no cumplieron con esta condición se retiraron al igual que los frutos; cada botón floral se emasculó y la rama se encerró con una manga entomológica de género de 300 hilos, para evitar la entrada de polen y de insectos. Posteriormente, en cada estado de floración se realizó la polinización cruzada manual y trascurridas 24 horas, de cada rama tratada, se retiraron los estigmas, se fijaron en FAA (10% formaldehído, 50% alcohol al 96%, 5% ácido acético y 35% agua destilada). La hidrólisis se realizó en una solución de NaOH al 0,6 % a una temperatura de 60° C durante 20 minutos; después se observaron y contabilizaron los tubos polínicos formados en cada fase floral, esto se hizo con un microscopio de fluorescencia marca Nikon Eclipse 90i. Se consideró un estigma receptivo cuando los tubos polínicos superaron la mitad del estigma (Martin 1959).

Para evaluar la presencia de polen en las anteras, se seleccionaron aleatoriamente diez árboles. En cada árbol se escogió una rama con botones florales en estado de pre-antesis, de cada rama se tomaron ocho flores, cuatro a las 10:00 a.m. y cuatro a las 3:00 p. m., inmediatamente se recolectó el polen presente en las anteras usando gelatina glicerizada teñida con fucsina acida. Las muestras de gelatina glicerizada se montaron en placas de vidrio y se observaron en un microscopio de luz Carl Zeiss Primo Sar, para determinar la presencia o ausencia de polen de café.

2.4 Análisis de la información

Para cada evaluación y tratamiento, se estimó el promedio y el error estándar de las variables de respuesta porcentaje de frutos cuajados y peso de los frutos en café cereza, y para la variable complementaria peso de las almendras tipo supremo. Posteriormente, se aplicó un análisis de varianza asociado al diseño experimental completamente aleatorio, con una confiabilidad mayor al 95% para determinar si había efecto de tratamientos para las variables de respuesta y la variable complementaria. Seguidamente, para la variable porcentaje de frutos cuajados se realizó un test de Dunnett al 5%, con el fin de comparar el tratamiento (T6) control de la emasculación, respecto al resto de tratamientos; aquellos que dieron similares a (T6), se eliminaron del análisis. Posteriormente, con los tratamientos diferentes a (T6) se realizó una comparación con la prueba Tukey al 5%, para establecer cuál es el mejor.

En cuanto a las variables peso de los frutos en café cereza y peso de las almendras tipo supremo, se realizó un análisis tipo Duncan con una confiabilidad mayor al 95%, con el fin de determinar diferencias entre tratamientos.

Si se encuentran diferencias a favor del tratamiento polinización natural con participación de los insectos (T4) con respecto, al tratamiento polinización sin participación de los insectos (T1), tanto para las variables de respuesta como para la variable complementaria peso de las almendras tipo supremo, se corroborará la hipótesis de investigación. Estos análisis fueron realizados usando el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System), versión 9.4 de 2020.

Para estimar la participación de los insectos visitantes florales en la producción y calidad del café, se determinó la diferencia relativa absoluta del tratamiento (T4) con respecto al tratamiento (T1) $(T4-T1/T4*100)$ para las variables de respuesta y la variable complementaria peso de las almendras tipo supremo.

Para determinar el efecto de los insectos visitantes florales en la calidad sensorial del café, se realizó un análisis cualitativo de acuerdo con la escala SCAA.

Para el análisis de la receptividad estigmática, se realizó un GLM tipo binomial en el software R versión 3.5.0 (R Core Team 2018), usando el paquete “MCMCglmm versión 2.32 (Hadfield 2021), con el fin de determinar la receptividad estigmática en cada etapa floral en términos de probabilidad y las diferencias estadísticas entre ellas.

Con respecto a la presencia de polen en las anteras, se realizó un GLM tipo binomial en el software R studio usando el paquete “MCMCglmm versión 2.32 (Hadfield 2021) para determinar la probabilidad de presencia de polen en etapa de pre-antesis. Posteriormente, se estimó la probabilidad de presentar receptividad estigmática y polen al mismo tiempo y de esta manera, determinar la probabilidad de que una flor se auto-polinice en pre-antesis.

3 Resultados

Tanto para las variables de respuesta como para la variable complementaria, el análisis de varianza mostró efecto de tratamientos, con una confiabilidad mayor al 95%. Para la variable porcentaje de frutos cuajados en la mayoría de las evaluaciones, la prueba de Dunnett al 5% mostró diferencias estadísticas entre el tratamiento (T6) control del proceso de emasculación y el resto de tratamientos

(Apéndice 1), por lo tanto, se excluyó de la prueba Tukey al 5%. El tratamiento (T6), presentó los valores más bajos, tanto para el porcentaje de frutos cuajados como para el peso de los frutos en café cereza y en almendras tipo supremo (Tablas 2, 3 y 4). Este comportamiento se mantuvo a través de las cinco evaluaciones (Apéndices 1 y 2), lo que indica, que el proceso de emasculación fue bien realizado.

El análisis con la prueba Tukey al 5% dio como resultado que el tratamiento (T3) indicó los valores máximos de autogamia, que en promedio fueron de $74,1 \pm 0,8\%$ (Tabla 2); sin embargo, estuvo influenciado por la concentración del polen dentro de la unidad experimental, debido a que se encerró con género de 300 hilos y no permitió que el polen fuera removido por la acción del viento y la lluvia; mientras que el tratamiento (T1) sí permitió que el polen circulara libremente de adentro hacia afuera de la unidad experimental, por lo tanto, se asume T1 como aquel tratamiento donde estaban ausentes exclusivamente los insectos.

El tratamiento (T4) polinización natural con participación de los insectos, fue diferente estadísticamente a los demás, con un mayor porcentaje de frutos cuajados de $82,9 \pm 0,6\%$, mientras que, el tratamiento (T1) donde se excluyeron los insectos, presentó un promedio de $69,4 \pm 0,9\%$ (Tabla 2).

En el tratamiento (T5) se emasculó y debido a esto, estuvo ausente la autopolinización en la antesis, por lo tanto, el viento, la gravedad y los insectos por sí solos, fueron responsables hasta de un $60,2 \pm 1,5\%$ de la polinización de las flores de café.

En los tratamientos (T7 y T8) el porcentaje de frutos cuajados fue 66 y 61, 8% respectivamente (Tabla 2), lo que indica que el proceso de emasculación de flores de cierta manera afecta el cuajamiento, esto puede deberse a la manipulación; sin embargo, demuestra que cuando se emascula, no es importante si el polen proviene de la misma planta o de otra planta debido a que fueron iguales estadísticamente y con valores cercanos entre sí.

El tratamiento (T2) presentó valores bajos, debido a que solo participaron el viento y la gravedad, quienes por sí solos tienen una participación del $13,2 \pm 0,7\%$ en el cuajamiento de los frutos del café.

Tabla 2. Promedios y error estándar para la variable porcentaje de frutos cuajados.

Tratamiento (T)	Promedio de cuajamiento (%)	*E.E
T1	69,4 C	0,9
T2	13,2 F	0,7
T3	74,1 B	0,8
T4	82,9 A	0,6
T5	60,2 E	1,5
*T6	3,2	0,4
T7	66 DC	1,05
T8	61,8 DE	1,2
(%) Efecto	16,3	

*E.E= Error estándar

*T6= Eliminado de la prueba de Tukey al 5%, control del proceso de emasculación.

*Letras no comunes indican diferencia entre promedios según prueba de Tukey al 5%.

*(%) Efecto= participación de los insectos en el cuajamiento, diferencia relativa absoluta entre T4 y T1.

Para la variable peso de los frutos en café cereza, el tratamiento (T4) polinización natural con participación de los insectos, también se diferenció estadísticamente del resto de tratamientos, según prueba Duncan al 5%, con un mayor peso de $93,3 \pm 2,0$ g; entre tanto, el tratamiento (T1) donde se excluyeron los insectos, presento un peso de $68,2 \pm 2,0$ g (Tabla 3).

Tabla 3. Promedios y error estándar para la variable peso de los frutos en café cereza.

Tratamiento (T)	Peso de frutos en café cereza (g)	*E.E
	Prom.	
T1	68,2 B	2,0
T2	14,3 E	2,3
T3	66,9 B	2,0
T4	93,3 A	2,0
T5	58,83 C	2,0
T6	6,4 F	3,7
T7	51,1 D	2,1
T8	51,0 D	2,1
(%) Efecto	26,9	

*E.E= Error estándar

*Letras no comunes indican diferencia entre promedios según prueba de Duncan al 5%.

*(%) Efecto= participación de los insectos en el peso de frutos en café cereza, diferencia relativa absoluta entre T4 y T1.

Para la variable complementaria calidad física del café, medida como peso de las almendras tipo supremo, la prueba de Duncan al 5%, también mostró efecto de tratamientos; de nuevo el tratamiento polinización natural con participación de los insectos (T4) se diferenció

estadísticamente respecto a los demás, el cual presentó el mayor peso de las almendras tipo supremo con un promedio de $14,7 \pm 0,6$ g (Tabla 4); mientras que el tratamiento (T1) donde se excluyeron los insectos presentó un peso promedio de $10,2 \pm 0,5$ g.

Tabla 4. Promedios y error estándar para la variable complementaria peso de las almendras tipo supremo.

Tratamiento (T)	Peso de los granos de café tipo Supremo (g)	
	Prom.	*E.E
T1	10,2 B	0,5
T2	2,0 D	0,2
T3	10,1 B	0,4
T4	14,7 A	0,6
T5	8,9 BC	0,5
T6	0,9 D	0,2
T7	7,5 C	0,3
T8	7,2 C	0,3
(%) Efecto	30,6	

*E.E= Error estándar

*Letras no comunes indican diferencia entre promedios según prueba de Duncan al 5%.

*(%) Efecto= participación de los insectos en el peso de café almendra tipo supremo, diferencia relativa absoluta entre T4 y T1.

Al determinar la diferencia relativa absoluta del tratamiento (T4) con respecto al tratamiento (T1), se encontró que las visitas de los insectos a las flores del café aumentaron el cuajamiento de los frutos en un 16,3% (Tabla 2) y a su vez el peso en café cereza en 26,9% (Tabla 3). Corroborando de esta manera la primera parte de la hipótesis de investigación. La diferencia relativa absoluta del tratamiento (T4) con respecto al tratamiento (T1) a través de las cinco evaluaciones, osciló entre un 9,4 y 26,7% para el porcentaje de frutos cuajados, y entre 5,6 y 31,2% para el peso de los frutos en café cereza (Apéndices 1 y 2).

Para la variable peso de las almendras tipo supremo la diferencia relativa absoluta entre el tratamiento (T4) y el tratamiento (T1) fue de 30,6% g (Tabla 4), por lo que se corrobora la segunda parte de la hipótesis de investigación.

En cuanto a la abundancia y riqueza de insectos visitantes florales del café, en las dos evaluaciones realizadas se registraron 891 individuos distribuidos en 17 familias de los órdenes Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera (Apéndice 4).

La mayor abundancia y riqueza se registró durante la evaluación cuatro, con 538 individuos y 15 familias; mientras que en la evaluación cinco se registraron 354 individuos y 10 familias (Apéndice 4).

El grupo más abundante fue el de las abejas con 754 individuos representando el 84,6% de la muestra, siendo la especie *Apis mellifera* la que más visitó las flores de *C. arabica* con 494 individuos, lo que corresponde al 55,4% del total de visitantes y el 65,5% de las abejas. En cuanto a las abejas nativas se destacó la presencia *Tetragonisca angustula* Latreille, 1825 (Hymenoptera: Apidae) siendo la segunda especie más abundante con 124 individuos y representó el 16,4% de la muestra de abejas.

En la evaluación cuatro se registró tanto la mayor abundancia de abejas con 493 individuos como la mayor riqueza con 11 especies visitantes florales del café, siendo *A. mellifera* y *T. angustula* las más abundantes con 363 y 65 individuos respectivamente, mientras que en la evaluación cinco se recolectaron 261 individuos y 10 especies, al igual que en la evaluación cuatro predominaron en abundancia *A. mellifera* y *T. angustula* con 131 y 59 individuos respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5. Abundancia y riqueza de abejas visitantes florales del café, registradas durante tres días de floración para las evaluaciones cuatro y cinco.

Especie	Número de individuos	
	Evaluación 4	Evaluación 5
<i>Apis mellifera</i>	363	131
<i>Tetragonisca angustula</i>	65	59
<i>Lasioglossum</i> sp.	9	41
<i>Trigonisca pediculana</i>	33	0
<i>Pereirapis</i> sp.	5	6
<i>Nannotrigona pilosa</i>	0	10
<i>Plebeia</i> sp.	7	0
<i>Nannotrigona tristella</i>	4	0
<i>Caenohalictus</i> sp.	0	4
<i>Augochlora</i> sp.	0	4
<i>Habralictus</i> sp.	0	4
<i>Partamona</i> cf. <i>peckolti</i>	2	1
<i>Exomalopsis</i> sp.	3	0
<i>Augochlorella</i> sp.	1	1
<i>Paratetrapedia</i> sp.	1	0
Total	493	261

Con relación al efecto de los visitantes florales en la calidad sensorial del café, los resultados se muestran en la Tabla 6. No se encontraron atributos sensoriales diferenciables entre el tratamiento ramas expuestas y el tratamiento donde los insectos fueron excluidos.

Tabla 6. Puntaje escala SCAA para cada uno de los tratamientos evaluados. Puntajes entre los 80 y los 84 puntos son considerados café Premium.

PUNTAJE ESCALA SCAA			
Grupo	Ramas expuestas	Ramas con mangas (exclusión de los insectos)	n (árboles)
1	81,88	81,25	50
2	83,06	81,56	50
3	82,63	83,63	50
4	82,63	83,63	50
5	82,63	81,75	50

Ensayos adicionales

Se analizaron 329 estigmas distribuidos en cuatro etapas florales pre-antesis (n=63), antesis (n=104), día 1 posterior a la antesis (n=103) y día 2 posterior a la antesis (n=59). La visualización de los estigmas fue clara y se observaron tubos polínicos. El análisis mostró diferencias estadísticas, siendo la etapa de pre-antesis la que tuvo menor receptividad estigmática con una probabilidad del $50,7\% \pm 0,253$; las demás etapas de floración fueron iguales estadísticamente, sin embargo, las etapas día 1 y día 2 posterior a la antesis presentaron los mayores valores de probabilidad de receptividad estigmática, en ambas fue de 98% con errores estándar de 0,71 y 1,0 respectivamente (Tabla 7). La probabilidad de presencia de polen en pre-antesis fue del 12,5%, y no se presentaron diferencias entre los horarios evaluados ($df = 0,049$ $z=0,6883$ $pvalor= 0,5$). Para determinar la probabilidad de ocurrencia de autopolinización en pre-antesis, se multiplicó la probabilidad de presentar receptividad estigmática (50,7%) y la probabilidad de que se presente polen en pre-antesis (12,5%) dando como valor un 6,3%.

Tabla 7. Promedios y error estándar para la probabilidad de receptividad estigmática en las diferentes etapas florales.

Etapas Florales	Probabilidad de receptividad estigmática	*E.E	t	p
Pre-antesis	0,507 B	0,253	0,125	<0,001
Antesis	0,88 A	0,308	6,597	<0,001
Día 1 posterior a la antesis	0,98 A	0,718	5,46	<0,001
Día 2 posterior a la antesis	0,98 A	1,014	4,003	<0,001

*E.E= Error estándar

*Letras no comunes indican diferencia entre promedios según prueba GML

Prueba de significancia < 0.001

4 Discusión

En Colombia se ha dado poca importancia a los estudios relacionados con la polinización cruzada en café, debido a que la especie cultivada, *C. arabica* es autocompatible; de acuerdo con Arcila (2007), las flores se autopolinizan en un 90% en etapa de pre-antesis. A pesar de esto, en esta investigación se encontró que la participación de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos del café fue mayor al 10%, en cuatro de las cinco evaluaciones realizadas, superando el porcentaje que hasta ahora Castillo (1976) había encontrado, incluso para la misma localidad (Estación Central Naranjal). Nosotros encontramos que la participación en promedio de los insectos en el cuajamiento de los frutos del café fue del 16,3%, alcanzando valores incluso del 26,7%, estos porcentajes se encuentran dentro de los rangos reportados por otros investigadores, que encontraron entre un 10% hasta un 30% de participación de los insectos (Amaral 1952, Sein 1959, Badilla and Ramírez 1991, Flórez et al. 2002, Klein et al. 2003a). Sin embargo, para Colombia este estudio es relevante dado que la única información que se tenía, eran los reportes por Castillo (1976) y Bravo-Monroy et al. (2015) por tal razón, se había subvalorado la participación de los insectos en el cuajamiento de los frutos del café.

En este estudio la participación de los insectos visitantes florales en el cuajamiento de los frutos del café oscilo entre 9,4% y 26,7% a través de las evaluaciones. Estas variaciones pueden deberse a las diferentes condiciones bióticas y abióticas que se presentaron durante las evaluaciones, ya

que la participación de los insectos en el cuajamiento de los frutos del café, puede verse afectada por variables climáticas (Munyuli 2011), aspectos fenológicos de la flor y la abundancia de la floración (Peters and Carroll 2012, Munyuli 2011). También se puede derivar de la cercanía de los lotes de café a relictos de bosques o áreas conservadas, dado que estos sitios presentan una mayor abundancia y riqueza de abejas, lo cual está relacionado con un mayor porcentaje de cuajamiento (Garibaldi et al. 2011, Hipólito et al. 2018); otro factor que influye es la estacionalidad de los insectos durante el periodo de floración (Peters and Carroll 2012). También se conoce que algunas variables climáticas afectan de manera diferencial las visitas realizadas por los diferentes taxones de abejas, siendo que, para algunas especies, el brillo solar se correlaciona positivamente con la actividad de pecoreo en las flores de café, mientras que para otras se correlaciona negativamente con su actividad (Munyuli 2011).

Nosotros encontramos que cuando se emasculan las flores y el polen proviene de otra planta (T7) o de la misma planta (T8) el porcentaje de frutos cuajados fue igual estadísticamente, con valores de 66 y 61,8% respectivamente; esto puede deberse a que los lotes donde se realizó la investigación fueron sembrados con *C. arabica* var. Castillo[®], la cual es una variedad mejorada, compuesta por 29 progenies desarrolladas a partir de cruzamientos de Caturra con el Híbrido de Timor; estas líneas son compatibles y no se esperaría una alta variabilidad genética entre plantas, además fueron seleccionadas por su alta fertilidad (Cortina et al. 2013). No obstante, aunque en este estudio no se pueda concluir que la polinización cruzada en *C. arabica* sea mejor que la autofertilización, los resultados muestran que la polinización cruzada si ocurre en la planta de café, además otros autores lo demuestran, al encontrar un aumento en el cuajamiento a favor de la polinización cruzada desde un 10% hasta un 54% (Taschdjian 1932, Carvalho and Krug 1949, Klein et al. 2003a), sin embargo, dentro de la metodología no dejan claro si las flores se emascularon. También es importante mencionar que nosotros manipulamos las flores en el proceso de emasculación, lo que pudo afectar el porcentaje de cuajamiento (Jiménez and Castillo 1976).

En Colombia Castillo (1976) y Jiménez y Castillo (1976) reportaron un aporte de la autopolinización en el cuajamiento de los frutos del café del 90%; mientras que en la literatura otros autores reportaron un porcentaje menor que osciló entre 29 y 47,9% (Klein et al. 2003a, Hipólito et al. 2018). En este estudio, se encontró que el cuajamiento de los frutos del café por autopolinización (T3) está alrededor del 74,1% en promedio, y que en unos ambientes sobre

saturados de polen se podrían obtener niveles hasta del 77,1 %, dado que este tratamiento estuvo influenciado por una alta concentración de polen dentro de la unidad experimental, debido a que se encerró con género de 300 hilos y no permitió que el polen fuera removido por la acción del viento y la lluvia. La variación de los datos entre las distintas investigaciones, puede deberse a una diferencia ligada a las variedades usadas, ya que se sabe que la producción cambia dependiendo de las hibridaciones realizadas como parte del desarrollo de nuevas variedades (Beksisa et al. 2018, Marie et al. 2020); del mismo modo, la producción de un cultivo puede verse afectada tanto por el genotipo, como por su interacción con el ambiente (Acquaah 2007).

En este estudio se encontró que las condiciones climáticas marcadas por una precipitación acumulada mayor, una temperatura media menor y un menor número de horas de brillo solar en los tres días de floración, afectaron la polinización mediada por el viento y la gravedad, tratamiento (T2) ya que el porcentaje de frutos cuajados fue menor al 4% (Apéndices 1 y 4); mientras que en las evaluaciones donde se presentaron condiciones de sequía, mayor temperatura media y un mayor número de horas con brillo solar (Apéndice 4), el porcentaje de frutos cuajados en este mismo tratamiento fue hasta de 27,1,7% (Apéndice 1). Este valor supera lo reportado por Castillo (1976) que fue de 7,85%. Aunque en *C. arabica* el efecto del clima en la dispersión del polen no se ha estudiado a fondo, se sabe que la temperatura y la precipitación actúan sobre la dispersión del polen (Castillo 1976), dado que la temperatura facilita la dehiscencia de las anteras, y la lluvia actúa como un sedimentador del polen en el aire (González et al. 1996). La disminución del porcentaje de cuajamiento en la evaluación uno, para aquellos tratamientos donde hay una participación de la polinización mediada por el viento y la gravedad, se explicaría también bajo este panorama, adicionalmente, condiciones como la velocidad del viento, la forma del terreno y la distancia de siembra pueden tener un efecto en la polinización mediada por el viento y la gravedad (Castillo 1976).

Para esta investigación el aporte del viento, la gravedad y los insectos en el porcentaje de frutos cuajados fue del 60,2% (T5); este valor indica que, en ausencia de autopolinización, los insectos principalmente, seguido por el viento y la gravedad contribuyen significativamente a la polinización de las flores del café. Este valor supera el 21,9% reportado por Carvalho y Krug (1949). No obstante, se mantiene por debajo del 93,47% reportado por Jaramillo (2012). En nuestro caso pudo verse afectado por factores ya mencionados, que alteran el aporte del viento y la

gravedad en el cuajamiento. A pesar de que, en este tratamiento, las flores fueron emasculadas, removiendo gran parte de la corola, estas fueron visitadas por algunas abejas, quienes fueron en búsqueda de néctar. Estudios realizados por Pierre et al. (2010) demuestran que, aunque las abejas no tengan contacto con las estructuras reproductivas, estas podrían ayudar a dispersar el polen en el aire, si sobrevuelan cerca de las flores, aumentando la polinización por viento y gravedad, lo que también pudo haber influenciado en los valores obtenidos en este estudio.

En cuanto a la riqueza y abundancia de los insectos visitantes florales en las evaluaciones cuatro y cinco; se encontró que en la evaluación cuatro se registró la mayor abundancia tanto de abejas como de insectos; del mismo modo, se encontró una mayor diferencia relativa absoluta entre el tratamiento polinización natural con participación de los insectos (T4) y el tratamiento donde se excluyeron a los insectos (T1) para el porcentaje de frutos cuajados y peso de los frutos en café cereza. Algunos estudios relacionan la riqueza de especies por encima de la abundancia, con un mayor porcentaje de cuajamiento (Klein et al. 2003b, Ricketts 2004, Vergara and Badano 2009, Peters and Carroll 2012, Saturni et al. 2016). En las dos evaluaciones realizadas se encontró que las abejas nativas representaron el 29,1% de las visitas a las flores de café, estas pueden tener un papel relevante en la polinización de *C. arabica* (Klein et al. 2003a), ya que se ha encontrado que la polinización de estas abejas, podría en ciertos casos llegar a ser más efectiva que *A. mellifera* (Klein et al. 2003a, 2003b).

En este estudio se reporta un aporte de los insectos visitantes florales en la producción del 26,9%, medido como el peso total de los frutos en café cereza; esta proporción se encuentran dentro de los rangos reportados por Roubik (2002b, 2002c) el cual fue entre 25% y el 56%. Diversos estudios han demostrado que la polinización mediada por abejas aumenta el peso del fruto del café y da lugar a mejores características físicas del mismo (Roubik 2002b, 2002c, Ricketts et al. 2004, Karanja et al. 2013). En Jamaica Raw y Free (1977) condujeron un experimento con *A. mellifera*, enjaulando plantas de *C. arabica* variedad Carurra, mencionando que el peso de los frutos se duplicó en las plantas enjauladas con abejas. Más tarde estudios realizados por Roubik (2002c) en *C. arabica* variedades Caturra y Catimor, demostraron que la retención final de los frutos fue un 25% mayor debido a las visitas por parte de las abejas, al igual menciona que puede ocurrir hasta un beneficio del 56% en la producción en el tratamiento de polinización abierta frente al tratamiento donde los insectos se excluyeron. En Colombia Jaramillo (2012) en un estudio

exploratorio, encontró que en flores emasculadas y expuestas a agentes polinizadores (viento, gravedad e insectos), presentaron un mayor peso promedio por fruto y un mayor tamaño, frente al resto de tratamientos evaluados; sin embargo, estos datos no son comparables con los reportados en la presente investigación, dado que Jaramillo (2012) evaluó el peso promedio por fruto y nosotros evaluamos el peso total del café cereza recolectado en cada tratamiento.

Según las normas establecidas por la FNC-Comité Nacional de Cafeteros (2002), el tamaño de las almendras de café, es considerado para estimar el factor de rendimiento y por ende su precio final en la exportación. Los granos de mayor tamaño son valorados por tener una mayor calidad física, y en el tamizaje son catalogados como Premium los que quedan retenidos por encima de la malla 18, seguido de los granos tipo Supremo retenidos en la malla 17. En este estudio se evaluó el peso total de las almendras tipo supremo, como una variable de calidad física, encontrando un mayor peso en el tratamiento (T4) el cual estuvo expuesto a los insectos, respecto al tratamiento (T1) donde se excluyeron los insectos y el tratamiento (T3) de autopolinización, lo que infiere un efecto de los insectos visitantes florales en el peso total de las almendras tipo supremo de un 30,6%. La proporción en la cosecha de almendras de mayor tamaño en el café además de los insectos, también puede estar relacionado con factores genéticos, y puede cambiar entre variedades, es así como la variedad Castillo® presenta una proporción de café almendra tipo supremo mayor al 80% (Cortina et al. 2013). Sin embargo, todos los tratamientos y unidades experimentales de esta investigación estuvieron sometidos a las mismas condiciones tanto de variedad como ambientales y aun así se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio son nuevos ya que estas variables no han sido evaluadas por los autores antes mencionados.

En cuanto al efecto de los insectos visitantes florales en la calidad sensorial del café, en este estudio no encontraron atributos sensoriales diferenciables, entre los tratamientos ramas excluidas de los insectos y ramas sin excluir; sin embargo, estudios similares reportan que la polinización en presencia de los insectos mejora la calidad en taza, atribuyéndole un mejor sabor y aroma (Karanja et al. 2013), no obstante, son muchos los factores que intervienen en la calidad en taza del café, desde condiciones del cultivo, como la presencia de sombríos, la altitud, la temperatura, el uso de fertilizantes en el suelo, la genética del cultivo, el proceso del beneficio y de poscosecha, entre otras (Puerta 2000, 2001, Muschler 2001, Wintgens 2004, Aristizábal and Duque 2006, Arcila

2007). Por lo tanto, encontrar una relación entre la polinización por insectos con una mayor calidad en taza, puede ser causa de una correlación coincidente.

De acuerdo con Arcila (2007), las flores se autopolinizan en un 90% en etapa de pre-antesis. Teniendo en cuenta esto, en el presente estudio se encontró que el porcentaje de flores que se autopolinizaron en pre-antesis fue menor. Estudios realizados por diferentes autores determinaron que el porcentaje de autopolinización en pre-antesis puede llegar hasta un 10% (Krug and Mendes 1943, Cabrera 1962). En esta investigación la receptividad estigmática en pre-antesis fue del 50,7%, y la probabilidad de presencia del polen en pre-antesis fue de 12,5 %, dando como resultado que la probabilidad de que ambos eventos ocurran simultáneamente (es decir que ocurra la autopolinización en pre-antesis) es de tan sólo el 6,3%. Este valor también es soportado por el tratamiento (T6) el cual hizo las veces de control de la técnica de emasculación y a su vez fue un indicador para determinar el número de flores autopolinizadas en pre-antesis, este porcentaje a través de las cinco evaluaciones fue por debajo del 10% , lo que nos permite inferir no solo una correcta aplicación metodológica, sino que gran parte del cultivo no se poliniza en etapa de pre-antesis, ya que parece ser, que la mayor parte de la polinización ocurre a partir de la antesis, es en este momento cuando se libera el polen y el estigma se encuentra receptivo (Krug and Mendes 1943, Alvim 1985); cabe destacar que las flores de *C. arabica* pueden durar de uno a dos días después de ser polinizadas (Free 1993, Aga 2005), sin embargo, cuando la polinización no ocurre estas pueden llegar a permanecer hasta cinco días (Free 1993), ventana suficiente para que la polinización mediada por los insectos tenga una participación en el cultivo.

5 Consideraciones Finales

1. La especie *C. arabica* a pesar de ser una planta autógama, se ve beneficiada por la presencia de insectos visitantes florales en el cultivo, los cuales aumentan el cuajamiento de los frutos en un 16,3 % y la producción en un 26,9%.
2. La calidad física del café medida como el peso de las almendras tipo supremo, aumentó en un 30,6% cuando hubo participación de los insectos.
3. No se encontraron atributos sensoriales ligados a la presencia de los insectos visitantes florales en *C. arabica*; esto pudo deberse a que esta variable depende más de otros factores que contribuyen a la calidad en taza.

4. La polinización de *C. arabica*, ocurre a partir de la antesis, momento en el cual los insectos visitantes florales pueden cumplir con el papel de polinizadores.

6 Apéndices

Apéndice 1. Promedios y error estándar, para la variable de respuesta porcentaje de frutos cuajados en las cinco evaluaciones realizadas.

Tratamientos (T)	Evaluación 1		Evaluación 2		Evaluación 3		Evaluación 4		Evaluación 5	
	Prom.	*E.E	Prom.	*E.E	Prom.	*E.E	Prom.	*E.E	Prom.	*E.E
T1	56,4 B	3	66,0 C	1,6	75,3 B	1,2	72,4 B	2	76,8 B	1,6
T2	3,5	0,7	9,1	1	8,3 D	1	17,9 D	1,4	27,1 D	1,7
T3	71,8 A	2,3	74,9 B	1,9	74,0 B	1,2	72,5 B	2,2	77,1 B	2,2
T4	77,0 A	1,9	82,4 A	1,3	86,1 A	0,8	83,9 A	1,1	84,8 A	1
T5	31,0 C	2,4	44,7 D	2,9	71,2 C	2,1	72,8 B	1,7	81,3 BA	1,4
*T6	0,5	0,2	4,1	1,9	0,06	0	6,8	1,6	4,3	0,8
T7	72,4 A	2,8	71,0 C	1,8	63,9 C	1,2	58,4 C	2,9	63,7 C	1,9
T8	50,1 B	2,9	73,6 B	1,9	72,4 B	2	50,1 C	2,7	62,5 C	2,5
(%) Efecto	26,7		19,9		12,5		13,7		9,4	

*E.E= Error estándar

* T6= Fue excluido del análisis

^Letras no comunes indican diferencia entre promedios según prueba de Tukey al 5%.

*(%) Efecto= participación de los insectos en el cuajamiento, diferencia relativa absoluta entre T4 y T1.

Apéndice 2. Promedios y error de estándar, para la variable de respuesta peso de frutos en café cereza en las cinco evaluaciones realizadas.

Tratamiento (T)	Evaluación 1		Evaluación 2		Evaluación 3		Evaluación 4		Evaluación 5	
	Prom. (g)	*E.E	Prom. (g)	*E.E	Prom. (g)	*E.E	Prom. (g)	*E.E	Prom. (g)	*E.E
T1	39,1 B	2,9	73,3 B	4,6	32,4 AB	2	98,5 B	5,3	73,5 B	3,6
T2	6,4 D	1,8	12,3 D	1,8	4,3 C	0,7	27,8 D	2,2	14,7 E	1,5
T3	45,1 B	3,6	80,6 B	3,8	31,7 A	1,8	92,3 B	6,1	62,9 C	3,2
T4	56,9 A	4,5	110,5 A	5,5	34,3 A	2	140,9 A	6,2	93,3 A	4,7
T5	20,6 C	2	49,7 C	3,6	33,4 A	2,4	89,1 B	6,1	68,4 BC	3,9
*T6	2,1 D	0,4	14 D	.	8 C	4,7	5,2 E	1	7 E	1,6
T7	38,8 B	2,9	70,1 B	3,6	21,4 B	1,4	60,3 C	3,3	47,0 D	3,7
T8	33,2 B	2,8	71,8 B	4,1	26,3 AB	1,4	58,7 C	4,1	38,0 D	2,5
(%) Efecto	31,2		33,7		5,6		30,1		21,3	

*E.E= Error estándar

*Letras no comunes indican diferencia entre promedios según prueba de Duncan al 5%.

*Efecto= participación de los insectos en el peso total de los frutos en café cereza, diferencia relativa absoluta entre T4 y T1.

Apéndice 3. Abundancia y riqueza de insectos visitantes florales del café, registrados durante los tres días de floración para las evaluaciones cuatro y cinco.

Orden	Familia	Nº de individuos evaluación 4	Nº de individuos evaluación 5
Hymenoptera	Apidae	477	200
	Formicidae	28	78
	Halictidae	15	61
	Pompilidae		1
	Scoliidae	1	
	Vespidae	1	1
Diptera	Bibionidae	1	
	Lauxaniidae	2	1
	Syrphidae	4	6
	Tephritidae	1	
Coleoptera	Anthribidae	1	
	Chrysomelidae	2	3
	Coccinellidae	2	1
	Dascilidae		1
Hemiptera	Miridae	1	
	Pentatomidae	1	
Dermaptera		1	
	Total General	538	353

Apéndice 4. Condiciones climáticas registradas durante tres días de floración en las cinco evaluaciones realizadas.

Evaluación (E)	Lluvia acumulada (mm)	Temperatura promedio (°C)	Brillo solar acumulado (h*día)
1	80,4	20,32	7,4
2	10,8	21,72	14,3
3	17,6	22,26	15,7
4 y 5	1,7	23,25	18,4

*Las evaluaciones 4 y 5 se realizaron paralelamente, en la misma Estación Experimental, bajo las mismas condiciones climáticas.

7 Bibliografía

- Acquaah, G. 2007. *Principles of plant breeding and genetics*. Malden, MA USA: Blackwell Publishing.
- Aga, E. 2005. Molecular genetic diversity study of forest coffee tree (*Coffea arabica L.*) populations in Ethiopia: implications for conservation and breeding. Thesis, Department of Crop Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp.
- Albuquerque, P. M. C. D., and J. M. F. D. Camargo. 2007. Espécies novas de *Trigonisca* Moure (Hymenoptera, Apidae, Apinae). *Revista Brasileira de Entomologia* **51**(2):160-175.
- Amaral, E. 1952. Essay on the influence of *Apis mellifera L.* on the pollination of the coffee plant. Preliminary note. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Boletim, 9.
- Amaral, E. 1960. Influence of insects on pollination of caturra coffee. *Revista de Agricultura* **35**:139-147.
- Alvim, P.T. 1985. *Coffea*. Pages 308-316 in A.H. Halevy editor. *CRC handbook of flowering*. Vol 2. CRC Press. Boca Raton, Fla.
- Arcila, P. J. 2007. Crecimiento y desarrollo de la planta de café. Pages 21-61 in P. J. Arcila, V. F. Farfán, B. A. M. Moreno, G. L. F. Salazar, G. E. Hincapié editors. *FNC- Cenicafé. Sistemas de producción de café en Colombia*. Blanecolor Lta. Colombia, Chinchiná.
- Aristizábal, A. C., and O. H. Duque. 2006. Determinación de economías de escala en el proceso de beneficio del café en Colombia. *Cenicafé* **57**(1):17-30.
- Badilla, F., and B. W. Ramírez. 1991. Polinización de café por *Apis mellifera L.* y otros insectos en Costa Rica. *Turrialba* **41**(3):285-288.
- Beksisa, L., S. Alamerew, A. Ayano, and G. Daba. 2018. Genotype environment interaction and yield stability of Arabica coffee (*Coffea arabica L.*) genotypes. *African Journal of Agricultural Research* **13**(4):210-219.
- Borror, D. J., C. A. Triplehorn, and N. F. Johnson. 1989. *Introduction to the Study of Insects*. 6th edition. Brooks.
- Bravo-Monroy, L., J. Tzanopoulos, and S. G. Potts. 2015. Ecological and social drivers of coffee pollination in Santander, Colombia. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **211**:145-154.

- Buck, M., N. E. Woodley, A. Borkent, D. M. Wood, T. Pape, J. R. Vockeroth, V. Michelsen, and S. A. Marshall. 2009. Key to Diptera families-adults. *Manual of Central American Diptera* **1**:95-156.
- Cabrera, W. 1962. Estudios en polen y polinizaciones en *Coffea arabica* L. Tesis, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, Centro Tropical de Investigación y Enseñanza para Graduados. Turrialba, Costa Rica.
- Carvalho, A., and C. A. Krug. 1949. Agentes de polinização da flor do cafeeiro (*Coffea arabica* L). *Bragantia* **9**(1-4):11-24.
- Castillo, J. 1976. Tasa de polinización cruzada del café Arabigo en la region de Chinchiná. *Revista Cenicafé* **27**(02):78-88.
- Cortina, H. A., J. R. Acuña, M. P. Moncada, J. C. Herrera, and D. M. Molina. 2013. Variedades de Café Desarrollo de Variedades. Pages 170-204 in *Cenicafé- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia- FNC editor. Manual Cafetero Colombiano. Primera Edición. Tomo I*. LEGIS, Colombia.
- Dafni, A., P. G. Kevan, and B. C. Husband. 2005. *Practical pollination biology*. Environquest Ltd. Ontario.
- DaMatta, F.M. et al. 2007. Ecophysiology of coffee growth and production. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **19**(4):485-510.
- Darwin, C. 1876. Effects of cross and self fertilization in the vegetable kingdom. London: John Murray;
- De Marco, P., and F. F. Coelho. 2004. Services performed by the ecosystem: forest remnants influence agricultural cultures' pollination and production. *Biodiversity and Conservation* **13**(7):1245-1255.
- Esquivel, I. L., K. A. Parys, and M. J. Brewer. 2021. Pollination by Non-*Apis* Bees and Potential Benefits in Self-Pollinating Crops. *Annals of the Entomological Society of America* **114**(2): 257-266.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia-FNC, Comité Nacional de Cafeteros. 2002. Resolución número 5 de 2002. Bogotá: La Federación, 2002. *Online*. <https://federaciondefcafeteros.org/static/files/RESOL5-2002.pdf>
- Centro Nacional de Investigaciones de Café. 2020. Anuario meteorológico cafetero 2019. <http://hdl.handle.net/10778/660>.

- Flórez, J. A., R. Muschler, C. A. Harvey, B. Finegan, and D. W. Roubik. 2002. Biodiversidad funcional en cafetales: El rol de la diversidad vegetal en la conservación de abejas. *Agroforestería en las Américas* **9**(35-36):29-36.
- Flórez, C. P., L. N. Ibarra, L. F. Gómez, C. Y. Carmona, A. Castaño, and A. Ortiz. 2013. Estructura y funcionamiento de la planta de café. Pages 123-168 in *Cenicafé - Federación Nacional de Cafeteros- FNC editor. Manual Cafetero Colombiano. Primera Edición. Tomo 1.* LEGIS, Colombia.
- Free, J. B. 1993. *Insect pollination of crops. Second Edition.* Academic press. London.
- Garibaldi, L.A et al. 2011. Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology letters* **14**(10):1062-1072.
- Garibaldi, L. A., et al. 2014. From research to action: enhancing crop yield through wild pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment* **12**:439-447.
- Garibaldi, L. A., et al. 2016. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science* **351**:388-391.
- González, F. J., P. Candau, and A. Marroquín. 1996. Parámetros meteorológicos que regulan la presencia del polen en el aire. *Online.* https://repositorio.aemet.es/bitstream/20.500.11765/1812/1/parametrosmeteo_cal96.pdf
- Hadfield, J. 2021. *MCMC methods for Multi-response Generalised Linear Mixed Models: The MCMCglmm R Package*, submitted. R package version, 1.
- Hipólito, J., D. Boscolo, and B. F. Viana. 2018. Landscape and crop management strategies to conserve pollination services and increase yields in tropical coffee farms. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **256**:218-225.
- Jaramillo, A. 2012. Efecto de las abejas silvestres en la polinización del café (*Coffea arabica*: Rubiaceae) en tres sistemas de producción en el departamento de Antioquia. Tesis, Universidad Nacional sede Medellín, Medellín, Antioquia, Colombia.
- Jaramillo, J., R. Ospina, and V. H. Gonzalez. 2019. Stingless bees of the genus *Nannotrigona* Cockerell (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in Colombia. *Zootaxa* **4706**(2).
- Jiménez, W., and J. Castillo. 1976. Observaciones sobre la polinización de *Coffea arabica* en la zona cafetera central de Colombia. *Revista Cenicafé* **27**(2):51-66.
- Kalisz, S., and D. W. Vogler. 2003. Benefits of autonomous selfing under unpredictable pollinator environments. *Ecology* **84**:2928-2942.

- Karanja, R. H., G. N. Njoroge, J. M. Kihoro, M. W. Gikungu, and L. E. Newton. 2013. The role of bee pollinators in improving berry weight and coffee cup quality. *Asian Journal of Agricultural Sciences* **5**(4):52-55.
- Klein, A. M., I. Steffan-Dewenter, and T. Tscharntke. 2003a. Bee pollination and fruit set of *Coffea arabica* and *C. canephora* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* **90**(1):153-157.
- Klein, A. M., I. Steffan-Dewenter, and T. Tscharntke. 2003b. Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **270**(1518):955-961.
- Klein, A. M., B. E. Vaissière, J. H. Cane, I. Steffan-Dewenter, S. A. Cunningham, C. Kremen, and T. Tscharntke. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of The Royal Society B* **274**:303-313.
- Krug, C. A., and A. T. Mendes. 1943. Conhecimentos gerais sôbre a genética e a citologia do gênero *Coffea*. *Brazilian journal of agriculture-Revista de Agricultura* **18**(11-12):399-408.
- Martin, R.N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Tech* **34**:125-128.
- Michener, C. D. 2007. *The bees of the world. 2nd Edition*. John Hopkins University Press. Baltimore.
- Munyuli, T. 2011. Factors governing flower visitation patterns and quality of pollination services delivered by social and solitary bee species to coffee in central Uganda. *African Journal of Ecology* **49**(4):501-509.
- Muschler, R. G. 2001. Shade improves coffee quality in a sub-optimal coffee-zone of Costa Rica. *Agroforestry systems* **51**(2):131-139.
- Nieves, J. L., F. Fontal, and F. Fernández. 2006. *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-DC, Colombia.
- Peters, V. E., and C. R. Carroll. 2012. Temporal variation in coffee flowering may influence the effects of bee species richness and abundance on coffee production. *Agroforestry Systems* **85**(1):95-103.
- Pierre, J., B. Vaissière, P. Vallée, and M. Renard. 2010. Efficiency of airborne pollen released by honeybee foraging on pollination in oilseed rape: a wind insect-assisted pollination. *Apidologie* **41**(1):109-115.

- Puerta, Q. G. 2000. Beneficie correctamente su café y conserve la calidad de la bebida. *Avances Técnicos Cenicafe* No 276: 1-8.
- Puerta, Q. G. 2001. Como garantizar la buena calidad de la bebida y evitar los defectos. *Avances Técnicos Cenicafe* No 284: 1-8.
- Puerta, Q. G. I. 2016. Calidad física del café de varias regiones de Colombia según altitud, suelos y buenas prácticas de beneficio. *Revista Cenicafe* **67**(1):7-40.
- R Core Team. 2018. *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Raw, A., and J. B. Free. 1977. The pollination of coffee (*Coffea arabica*) by honeybees. *Tropical Agriculture* **54**:365-370
- Ricketts, T. H. 2004. Tropical forest fragments enhance pollinator activity in nearby coffee crops. *Conservation biology* **18**(5):1262-1271.
- Ricketts, T. H., G. C. Daily, P. R. Ehrlich, and C. D. Michener. 2004. Economic value of tropical forest to coffee production. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**(34):12579-12582.
- Roubik, D. W. 2002a. African honeybees augment neotropical coffee yield. Pages 255-266 in Kevan, P. G., and V. L. Imperatriz-Fonseca editors. *Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature*. Ministry of Environment. Brasilia, Brazil.
- Roubik, D.W. 2002b. The value of bees to the coffee harvest. *Nature* **417**:708.
- Roubik, D. W. 2002c. Feral African bees augment neotropical coffee yield. Pages 255-266 in Kevan, P. G., and V. L. Imperatriz-Fonseca editors. *Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature*. Ministry of Environment. Brasilia, Brazil.
- SAS Institute. 2020. *SAS On Demand for Academics: User's Guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Saturni, F. T., R. Jaffe, and J. P. Metzger. 2016. Landscape structure influences bee community and coffee pollination at different spatial scales. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **235**:1-12.
- Sein, F. 1959. Do bees help coffee?. *Hacienda* **55**:36-50.
- Southwick, E. E., and L. Southwick Jr. 1992. Estimating the economic value of honey bees (Hymenoptera: Apidae) as agricultural pollinators in the United States. *Journal of Economic Entomology* **85**:621-633.

- Taschdjian, E. 1932. Beobachtung über Variabilität, Dominanz und Vizinismus bei *Coffea arabica*. *Zeitschrift für Züchtung Reihe A Pflanzenzüchtung* **17**:341-354.
- Vergara, C. H., and E. I. Badano. 2009. Pollinator diversity increases fruit production in Mexican coffee plantations: The importance of rustic management systems. *Agriculture: Ecosystems and Environment* **129**(1-3):117-123.
- Wintgens, J. 2004. Factors influencing the quality of green coffee. Pages 798 - 809 in J. Wintgens editor. *Coffee: growing, processing, sustainable production*. WileyVCH. Alemania.