

Cenicafé

Revista del
Centro Nacional de Investigaciones de Café



Volumen 69 Número 1

Enero - Junio 2018



**Federación Nacional de
Cafeteros de Colombia**

Ministro de Hacienda y Crédito Público

Mauricio Cárdenas Santamaría

Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural

Juan Guillermo Zuluaga Cardona

Ministro de Comercio, Industria y Turismo

María Lorena Gutiérrez Botero

Director del Departamento Nacional de Planeación

Luis Fernando Mejía

Representante del Gobierno en Asuntos Cafeteros

Nicolás Pérez Marulanda

COMITÉ NACIONAL

Periodo 1° enero/2015- diciembre 31/2018

José Fernando Montoya Ortega

José Alirio Barreto Buitrago

Eugenio Vélez Uribe

Danilo Reinaldo Vivas Ramos

Pedro Gonzalo Carrillo Urariyu

Javier Bohórquez Bohórquez

Álvaro Espitia

Ricardo Arturo Hernández Rubio

Jesús Armando Benavides Portilla

Alfredo Yáñez Carvajal

Carlos Alberto Cardona Cardona

German Parra Correa

Héctor Santos Galvis

Luis Javier Trujillo Buitrago

Camilo Restrepo Osorio

Gerente General

Roberto Vélez Vallejo

Gerente Administrativo

Carlos Alberto González Arboleda

Gerente Financiero

Juan Camilo Becerra Botero

Gerente Comercial

Juan Camilo Ramos Mejía

Gerente Técnico

Hernando Duque Orrego

Director Investigación Científica y Tecnológica

Álvaro León Gaitán Bustamante

Uso del material de esta revista:

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

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

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

Editada en junio de 2018
Tel: 57(6)8506550 Fax: 57(6)8504723 A.A.: 2427 Manizales
E-mail: cenicafe@cafedecolombia.com
www.cenicafe.org

Cenicafé

Revista del Centro Nacional de Investigaciones de Café

Manizales - Caldas - Colombia

VOL. 69

ENERO - JUNIO 2018

No. 1

CONTENIDO

APLICACIÓN DE ÍNDICES ESPECTRALES PARA IDENTIFICAR NECESIDADES DE FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN CAFÉ. José Raúl Rendón Sáenz; Siavosh Sadeghian Khalajabadi	7
APPLICATION OF SPECTRAL INDICES TO IDENTIFY NITROGEN FERTILIZATION NEEDS IN COFFEE	7
CALIDAD FÍSICA Y SENSORIAL DEL CAFÉ CULTIVADO EN EL PAISAJE CULTURAL CAFETERO DE COLOMBIA EN CALDAS. Gloria Inés Puerta Quintero; Jenny Paola Pabón Usaquén	16
PHYSICAL AND SENSORY QUALITY OF COFFEE GROWN IN THE COFFEE CULTURAL LANDSCAPE OF COLOMBIA IN CALDAS	16
EFFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE LA DURACIÓN Y SOBREVIVENCIA DE <i>Hypothenemus hampei</i> EN DIETA ARTIFICIAL CENIBROCA. Marisol Giraldo Jaramillo	32
EFFECT OF RELATIVE HUMIDITY ON DEVELOPMENTAL TIME AND SURVIVAL OF <i>Hypothenemus hampei</i> ON A CENIBROCA ARTIFICIAL DIET	32
DETECCIÓN DE <i>Rosellinia pepo</i> y <i>Rosellinia bunodes</i> ASOCIADAS A LLAGAS RADICALES, MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL (qPCR). Ángela Judith Carreño Pérez; Bertha Lucía Castro Caicedo; Narmer Fernando Galeano Vanegas; Álvaro León Gaitán Bustamante	40
DETECTION OF <i>Rosellinia pepo</i> and <i>Rosellinia bunodes</i> ASSOCIATED WITH ROOT ROTS BY REAL TIME PCR (qPCR)	40
DIVERSIDAD GENÉTICA DE <i>Metarhizium</i> spp. DE LA ZONA CAFETERA COLOMBIANA. Adriana Gisela Rosillo Guerrero; Patricia Marín Marín; Narmer Fernando Galeano Vanegas; Álvaro León Gaitán Bustamante	55
GENETIC DIVERSITY OF <i>Metarhizium</i> spp. OF THE COLOMBIAN COFFEE ZONE	55
EVALUACIÓN DE COAGULANTES DE EXTRACTOS NATURALES DE <i>Moringa oleifera</i> Y <i>Jatropha curcas</i> EN LAS AGUAS RESIDUALES DEL CAFÉ. Laura Vanessa Quintero Yepes; Nelson Rodríguez Valencia	68
EVALUATION OF NATURAL EXTRACTS COAGULANTS OF <i>Moringa oleifera</i> AND <i>Jatropha curcas</i> IN COFFEE WASTEWATER	68
TÉCNICAS DE VISIÓN ARTIFICIAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DOS DEFECTOS DEL CAFÉ LAVADO. Juan Mateo Castrillón Cuervo; Juan Rodrigo Sanz Uribe; Paula Jimena Ramos Giraldo	83
ARTIFICIAL VISION TECHNIQUES TO IDENTIFY TWO DEFECTS OF WASHED COFFEE ...	83
VALORACIÓN DEL CAMBIO DE APTITUD DEL CULTIVO DE CAFÉ EN COLOMBIA, POR VARIACIÓN EN LOS ESCENARIOS CLIMÁTICOS FUTUROS. Juan Carlos García López; Peter Läderach; Húver Posada Suárez	91
APTITUDE CHANGE ASSESSMENT OF COFFEE CULTIVATION IN COLOMBIA BY VARIATION IN FUTURE CLIMATE SCENARIOS	91

COMITÉ EDITORIAL

Álvaro L. Gaitán B.	PhD. Director, Cenicafé
Pablo Benavides M.	PhD. Ing. Agrónomo. Entomología, Cenicafé
Paula J. Ramos G.	Ph.D. Ing. Electrónica. Poscosecha, Cenicafé
Carmenza E. Góngora B.	PhD. Microbióloga. Entomología, Cenicafé
José Ricardo Acuña Z.	Ph.D. Biólogo. Fisiología Vegetal, Cenicafé
Diana M. Molina V.	Ph.D. Bacterióloga. Mejoramiento Genético, Cenicafé

EDITORES ESPECIALIZADOS

Juan Rodrigo Sanz U.	PhD. Cenicafé, FNC
Luis Miguel Constantino C.	MSc. Cenicafé, FNC

APLICACIÓN DE ÍNDICES ESPECTRALES PARA IDENTIFICAR NECESIDADES DE FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN CAFÉ

José Raúl Rendón Sáenz*, Siavosh Sadeghian Khalajabadi**

RENDÓN S., J.R.; SADEGHIAN K., S. Aplicación de índices espectrales para identificar necesidades de fertilización nitrogenada en café. Revista Cenicafé 69(1):7-15. 2018

El nitrógeno-N ha sido señalado como el nutriente más limitante para la producción de café en Colombia. En esta investigación se planteó como objetivo evaluar la aplicación de índices espectrales para determinar las necesidades de N en café (*Coffea arabica* L.) durante la etapa de producción. El experimento se realizó en la Estación Experimental Paraguaicito (Buenavista, Quindío) donde se aplicaron cinco dosis de N (0, 150, 225, 300 y 375 kg.ha-año⁻¹), suministradas como urea en los meses de abril y octubre de los años 2013 a 2015, los tratamientos se asignaron bajo un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. Antes de aplicar los tratamientos, en cada época se evaluó el índice relativo de clorofila-IRC con el equipo SPAD-502 en los tercios inferior, medio y superior de las plantas; así mismo, se valoró el Índice de Vegetación Diferencial Normalizado-NDVI con el equipo *GreenSeeker* y se registró la producción anual de café cereza. Las lecturas con el SPAD no permitieron determinar con exactitud la necesidad de realizar ajustes en la fertilización nitrogenada para café, los valores promedio de NDVI se redujeron con el incremento en la edad del cultivo expresando el vigor de las plantas, mientras que la producción acumulada presentó respuesta a las dosis crecientes de N, con una tendencia de tipo lineal ($P < 0,0001$).

Palabras clave: *Coffea arabica* L., nitrógeno, NDVI, SPAD.

APPLICATION OF SPECTRAL INDICES TO IDENTIFY NITROGEN FERTILIZATION NEEDS IN COFFEE

Nitrogen-N has been pointed out as the most limiting nutrient for coffee production in Colombia. This research aimed to evaluate the application of spectral indexes to determine the needs of N in coffee (*Coffea arabica* L.) during the production stage. The experiment was conducted at the Experimental Farm Paraguaicito (Buenavista, Quindío), where five urea N doses (0, 150, 225, 300 and 375 kg·ha⁻¹·year⁻¹) were applied in April and October from 2013 to 2015, the treatments were assigned under a randomized complete blocks design with four replications. Before administering the treatments, the relative chlorophyll-IRC index was evaluated in each season with the SPAD-502 equipment in the lower, middle and upper thirds of the plants. Likewise, the Normalized Differential Vegetation Index-NDVI was evaluated with the *GreenSeeker* equipment and the annual coffee berry yield was recorded. The SPAD readings did not allow to accurately determine the need to make adjustments to the nitrogen fertilization of coffee, the average values of NDVI were reduced with the increase in the age of the crop by expressing the vigor of the plants, while the accumulated production responded to the increasing doses of N with a linear trend ($P < 0.0001$).

Keywords: *Coffea arabica* L., nitrogen, NDVI, SPAD.

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

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

El nitrógeno (N) es el elemento que más se refleja en la composición mineral de las hojas de café con las aplicaciones que se hacen al suelo (7), los contenidos del elemento en este órgano de la planta tienen una alta relación con la producción del cultivo (21), por esta razón el N es el único elemento que no debe excluirse de los planes de fertilización (15), ya que al suprimirse, la producción de café disminuye en promedio hasta un 19% (16, 18).

Para los suelos de la zona cafetera colombiana, las recomendaciones de nutrición nitrogenada se basan principalmente en los contenidos de materia orgánica del suelo (MO), por ser ésta la principal reserva de N de la cual, a través de procesos de mineralización, se obtiene parte de los requerimientos para la planta. Cuando los contenidos de (MO) son menores a 8,2% se clasifican como bajos y muy bajos (17). Si la MO en el suelo es menor o igual al 8,0%, para la fertilización del café se sugiere utilizar las máximas dosis de N (300 kg.ha.año⁻¹), conforme aumentan los contenidos las dosis se disminuyen; en condiciones donde los contenidos de MO superan el 20,0% y el proceso de mineralización se reduce por bajas temperaturas, es necesario ajustar las recomendaciones incrementando las dosis (15).

Además de la determinación de los contenidos de nutrientes en el suelo, el análisis foliar constituye una medida del estado nutricional del cultivo, con el cual se logra identificar la necesidad de ajustes en los planes de nutrición. Para determinar el contenido mineral en las hojas de especies vegetales se han utilizado métodos destructivos muy específicos y de alto costo, el método Kjeldahl es la técnica más usada para la determinación cuantitativa del N total. Este tipo de análisis requiere de equipos especializados y reactivos que implican altos costos para la determinación (22).

Otra alternativa para determinar el contenido foliar de elementos como el N, es a través de métodos indirectos (no destructivos) basados en el uso de técnicas de agricultura de precisión, por medio de sensores portátiles con los que se evalúan índices espectrales. Uno de estos sensores es el SPAD (*Soil Plant Analysis Development*), utilizado para la medición del índice relativo de clorofila en especies vegetales, el cual se relaciona con los contenidos de N en las hojas. Los valores se basan en la cantidad de luz transmitida por la hoja en longitudes de onda en los 650 nm (LED rojo) y 940 nm (LED infrarrojo) (11); el rango de valores de lectura del SPAD es de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas, de acuerdo con el tono verde de las hojas (6).

Para evaluar el estado de vigor de los cultivos, su sanidad y nutrición, se ha utilizado el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), cuyo valor resulta de medir la reflectancia de la radiación en el espectro del rojo (650±10 nm) y el infrarrojo cercano (770±15 nm) (19). El sensor *GreenSeeker* (NTech Industries, INc., Ukiah, CA), presenta rangos de medición del NDVI entre (-1,0 y 1,0), siendo 0,7- 0,8 los valores más altos, indicadores de plantas en las mejores condiciones (5); este equipo portátil para la evaluación del vigor de los cultivos puede ser una herramienta de interés para establecer la relación entre el índice y las necesidades de nutrición nitrogenada.

Investigaciones desarrolladas para la evaluación de índices espectrales en café a partir del sensor SPAD, han permitido determinar una alta relación entre las lecturas obtenidas con el equipo y la concentración de N foliar evaluada en plantas de almácigo, indicando que cada unidad de lectura con el equipo equivale a 0,045% de nitrógeno

total en las hojas, con un límite superior de 71 unidades (13). Según Franca *et al.* (2), las lecturas de SPAD observadas en hojas de café con tonalidades verde-claro registran valores entre 25 y 40 unidades, hojas verdes entre 40 y 55 unidades y con tonalidades de verde oscuro lecturas entre 55 y 70 unidades.

En un estudio desarrollado por Reis *et al.* (14), la concentración de N foliar y las lecturas de SPAD en el cultivo de café mostraron correlaciones significativas ($r=0,94$) cuando se aplicaron dosis crecientes de N, con un valor mínimo de 43,85 y un máximo de 61,95 unidades SPAD. Otro aspecto importante observado en café es la relación que existe entre las lecturas SPAD, la época y el modo de aplicación del fertilizante (8). Lecturas de SPAD efectuadas en cultivos semestrales de tomate (*solanum lycopersicum*) y maíz (*Zea mays*) evidencian una alta relación entre las lecturas de clorofila relativa y la concentración de N foliar, con coeficientes de determinación (R^2) de 0,96 y 0,88, respectivamente (9; 12).

Pese a los avances en el uso potencial que exhiben estos sensores para la evaluación de índices espectrales, en la caficultura colombiana son pocas las investigaciones (1, 13) desarrolladas sobre la aplicación de estos índices para evaluar el estado de nutrición del cultivo y para el caso puntual de N no se cuenta con suficiente información que determine, a través de mediciones indirectas, la necesidad de ajustes en los planes de nutrición.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la aplicación de índices espectrales para determinar las necesidades de nutrición nitrogenada en el cultivo de café durante la etapa de producción, con el fin de hacer más eficiente la nutrición del cultivo y el uso de los fertilizantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Estación Experimental Paraguaicito, en el municipio de Buenavista, Quindío (75°44'W, 4°23'N), altitud 1.203 m, en la zona cafetera central de Colombia. Las características de clima y suelo se presentan en la Tabla 1. La investigación se realizó en un lote de café (*Coffea arabica*) Variedad Castillo[®], con una densidad de siembra de 6.666 plantas/ha. Se evaluaron cinco tratamientos, que consistieron en dosis crecientes de N, aplicadas luego de la siembra del cultivo.

Tabla 1. Características de clima y suelo en la Estación Experimental Paraguaicito.

Variables de clima	
Temperatura media (°C)	22,2
Precipitación (mm.año ⁻¹)	2.179,0
Brillo solar (h.año ⁻¹)	1.757,0
Humedad relativa (%)	78,5
Propiedades del suelo	
pH	4,60
Materia orgánica (%)	7,20
Nitrógeno (%)	0,31
Fósforo (mg.kg ⁻¹)	130,00
Potasio (cmol ₍₊₎ .kg ⁻¹)	0,61
Calcio (cmol ₍₊₎ .kg ⁻¹)	1,52
Magnesio (cmol ₍₊₎ .kg ⁻¹)	0,39
Aluminio (cmol ₍₊₎ .kg ⁻¹)	1,50

Durante la etapa de crecimiento vegetativo del cultivo hasta los 18 meses de edad se aplicaron en total dosis de N de (0,0, 29,0, 44,0, 58,0 y 73,0 g/planta), una vez inició la etapa reproductiva se aplicaron dosis de N de 0,0, 150,0, 225,0, 300,0 y 375,0 kg.ha-año⁻¹, durante los años 2013, 2014 y 2015, fraccionando las dosis de cada año en dos aplicaciones, realizadas en los meses de abril y octubre, en época de lluvias. Como fuente comercial de nitrógeno se utilizó urea (46% N), los demás nutrientes

se suministraron según las recomendaciones del análisis de suelo.

Los tratamientos se dispusieron bajo un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. Cada parcela experimental estuvo constituida por 28 plantas de café, de las cuales se seleccionaron cuatro plantas centrales para realizar las evaluaciones. Como variables de respuesta se registró la producción en gramos de café cereza por planta ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$). Antes de la fertilización, en los meses de abril y octubre, se realizaron mediciones del índice relativo de clorofila con el equipo SPAD-502 y el índice normalizado de vegetación (NDVI) con el equipo *GreenSeeker*. Las lecturas con el equipo SPAD-502 se hicieron dividiendo la planta de café en tres estratos, el estrato superior el cual corresponde a la zona de formación de nuevas ramas primarias, el estrato medio donde se encuentra la zona más productiva del árbol y el estrato inferior conformado por las ramas de mayor edad. En una de las caras del árbol se seleccionó una rama de cada estrato y en cada rama seleccionada se tomó una lectura en una de las hojas del tercer par, contadas desde el ápice, ubicando el equipo en la parte central de la hoja, al lado de la nervadura.

En los mismos árboles donde se realizó la lectura SPAD, también se registró el índice normalizado de vegetación (NDVI) con el equipo *GreenSeeker* (*NTech Industries, INC., Ukiah, CA*), desplazando el sensor a una distancia de 50 cm aproximadamente, en una de las caras del árbol.

Los datos de producción y las lecturas de SPAD y NDVI, fueron analizados a partir del análisis de varianza (ANOVA) y el análisis de regresión, según el diseño experimental aplicado. La prueba de Duncan, al nivel de significancia del 5%, se realizó para determinar la diferencia entre medias. El análisis estadístico se realizó a través del Software SAS versión 9.4 (*SAS Institute, 2012*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Índice relativo de clorofila. Los registros del índice relativo de clorofila obtenidos con el equipo SPAD, en los tres estratos de los árboles de café, mostraron para el estrato superior valores significativamente superiores a los obtenidos en los estratos medio e inferior (Figura 1). Las diferencias estadísticas entre los promedios de las unidades SPAD pueden asociarse a la dinámica del crecimiento de

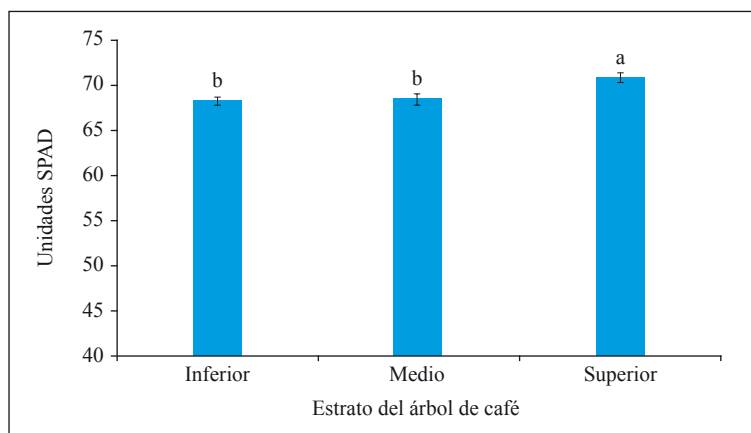


Figura 1. Unidades de lectura SPAD promedio en los estratos inferior, medio y superior del árbol de café y prueba de comparación Duncan ($P_r < 0,05$).

las plantas de café y a la movilidad del N. Con relación a la movilidad del N en las plantas, ésta se caracteriza por presentar la mayor concentración del elemento en las ramas y hojas más jóvenes (10). En los árboles de café todas las ramas pueden formar nuevas hojas, sin embargo, aquellas que se encuentran en la zona productiva tienden a presentar menores contenidos de N, en comparación con las hojas nuevas ubicadas en el estrato superior del árbol, lo que explica que los mayores valores de SPAD se hayan registrado en el estrato superior, donde es menos probable encontrar frutos extrayendo el elemento. Los resultados obtenidos con el SPAD conservan similitud a los reportados por Reis *et al.* (14) en café variedad Catuaí, con las mayores lecturas de SPAD registradas en la zona apical de la planta.

Considerando el estrato medio como la zona en la cual se concentra la mayor producción de los árboles café, a su vez donde más relación existe entre el N y la producción (21) y que corresponde al mismo sitio en el cual se toman las muestras para el análisis foliar, se optó por analizar las lecturas SPAD obtenidas en este lugar como un indicador de las necesidades de N para el cultivo en la etapa de producción.

Los promedios de unidades SPAD obtenidos en el estrato medio del árbol de café, en respuesta a las dosis crecientes de N, se presentan en la Tabla 2. Según el análisis de varianza aplicado para el diseño, se encontraron diferencias significativas sólo entre los promedios obtenidos en la evaluación del segundo semestre de 2014. Los promedios de SPAD registrados en el segundo semestre del año 2013, con un mínimo de 70,6 para el tratamiento sin N y un máximo de 78,3 para la dosis de 300 kg.ha-año⁻¹, conservan relación con el menor volumen de cosecha registrado durante este año. En el sitio de

estudio se presenta un patrón de distribución anual de la cosecha que corresponde al 60% en el primer semestre y un 40% en el segundo semestre. Para el año 2013 la cantidad de café recolectado en el primer semestre fue sólo el 8% de la cosecha anual y la cantidad cosechada durante el año fue menos del 40% del total recolectado en los años 2014 y 2015.

Puede considerarse que a partir de las unidades de lectura SPAD obtenidas en este estudio y la escasa relación encontrada con las dosis de N aplicadas, no es posible determinar con exactitud la necesidad de realizar ajustes en la fertilización nitrogenada de plantaciones de café en etapa de producción. Con base en observaciones similares, Gianquinto *et al.* (3) expresan limitaciones de las lecturas SPAD, para detectar de manera puntual el estado sub-óptimo del N en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*), en respuesta a la fertilización con dosis medias y altas de N, dado que no se encontraron diferencias entre las aplicaciones de dichas dosis.

En contraste, Grava *et al.* (4) encontraron respuesta a las dosis crecientes de N, al evaluar el índice relativo de clorofila en diferentes estados fenológicos del cultivo de café bajo fertirrigación, con una tendencia de tipo lineal e incrementos de aproximadamente dos unidades en las lecturas de SPAD por cada 100 kg.ha⁻¹ de N aplicado.

Índice normalizado de vegetación. Los registros de NDVI obtenidos con el equipo *GreenSeeker* en las plantas de café, mostraron efecto de los tratamientos según el análisis de varianza en las evaluaciones realizadas durante los años 2014 y 2015 (Figura 2). Durante estos años, el promedio del NDVI registrado para el tratamiento sin N fue menor (entre 0,06 y 0,08 unidades) al promedio obtenido con la dosis de 300 kg.ha-año⁻¹.

Tabla 2. Promedios (Prom.) y error estándar (E.E.) para las unidades SPAD en el estrato medio del árbol de café con las dosis crecientes de N.

Año	Semestre	Dosis N (kg.ha.año ⁻¹)										Pr > F
		0		150		225		300		375		
		Prom.	E.E.	Prom.	E.E.	Prom.	E.E.	Prom.	E.E.	Prom.	E.E.	
2013	1	59,381	5,719	60,719	6,120	60,950	2,634	62,725	3,307	65,756	1,687	0,1912
	2	70,594	1,819	74,506	2,971	76,525	1,068	78,319	2,473	76,956	2,116	0,2078
2014	1	65,163	1,898	68,763	1,069	69,392	1,629	67,338	2,767	69,631	1,109	0,5180
	2	57,288	1,899	68,606	3,477	67,213	3,237	70,244	1,787	72,456	2,165	0,0006
2015	1	62,713	2,915	68,869	0,974	69,688	2,801	68,738	1,743	70,356	1,710	0,3085
	2	61,275	2,687	63,594	2,172	66,650	1,286	66,256	1,447	68,275	2,102	0,2437

En general, para las lecturas de este índice, se observó la disminución de los valores promedio de NDVI con el incremento en la edad del cultivo, esta condición pudo asociarse con la pérdida de ramas bajas en las plantas, el desplazamiento de la producción hacia la parte superior del árbol y la disminución de la producción en el cultivo cuando se completa el ciclo de producción. Silva *et al.* (20) en plantaciones de café, encontraron variación de los valores de NDVI en función de la época en la que se realizan las evaluaciones, y mencionan que la pérdida del volumen de hojas en períodos con menor precipitación y cuando disminuyen temperaturas, provocan la reducción del índice NDVI.

El índice de vegetación como herramienta para diagnosticar necesidades extremas de nutrición en plantaciones de café, puede tener un uso potencial en vista de que expresa el estado de vigor de las plantas en sus etapas de desarrollo; sin embargo, presenta limitaciones para identificar las necesidades puntuales relacionadas con la nutrición nitrogenada en el cultivo de café.

Producción de café cereza. Al analizar la producción de café cereza registrada por cada año, se detectó un aumento relativo de esta variable con las dosis crecientes de N aplicadas, mostrando efecto sobre la producción obtenida durante el año 2015

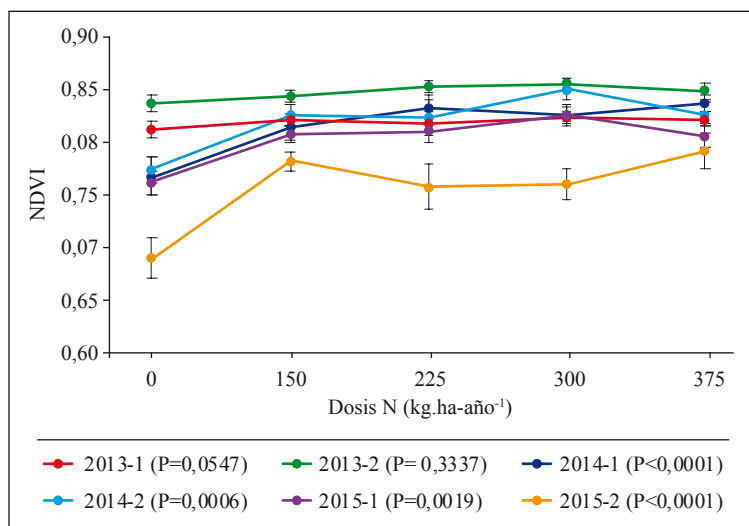


Figura 2. Lecturas promedio del Índice de Vegetación Diferencial Normalizado -NDVI en función de las dosis crecientes de N y la edad del cultivo.

según el análisis de varianza ($P = 0,0418$). A partir de estos resultados, con una dosis de 300 kg.ha.año⁻¹ de N, el incremento en la producción fue del 33,6% en 2013, del 23,9% en 2014 y del 43,0% en 2015 en comparación con el tratamiento donde no se aplicó N (Tabla 3).

La producción acumulada de café cereza por hectárea en los tres años evaluados, mostró efecto de las dosis de N según el análisis de varianza ($P = 0,0018$). Para esta misma variable se determinó que la respuesta a la fertilización nitrogenada con dosis crecientes se ajustó a una tendencia de tipo lineal ($P < 0,0001$), con un coeficiente de determinación $R^2=0,96$ (Figura 3).

El efecto de las dosis crecientes de N sobre la producción acumulada de café cereza

permitió determinar el mayor incremento en la producción (33,9%), cuando se comparó la dosis de 0 kg.ha.año⁻¹ de N con la de 150 kg.ha.año⁻¹ y un menor incremento sobre la producción (4,0%) cuando se aumentó la dosis de N de 300 a 375 kg.ha.año⁻¹ (Figura 2).

Los resultados de este estudio permiten concluir que a partir del índice relativo de clorofila obtenido con el equipo SPAD, las evaluaciones realizadas para el diagnóstico del estado nutricional del cultivo en etapa de producción no reflejan las necesidades de ajuste en los planes de nutrición nitrogenada. El índice normalizado de vegetación obtenido con el equipo *GreenSeeker*, permite diagnosticar necesidades extremas de nutrición en plantaciones de café, pero presenta limitaciones para identificar las necesidades puntuales relacionadas con la nutrición nitrogenada en el cultivo de café.

Tabla 3. Promedios (Prom.) y error estándar (E.E.) para la producción anual de café cereza en kg.ha⁻¹ según las dosis crecientes de N.

Año	Dosis N (kg.ha.año ⁻¹)									
	0		150		225		300		375	
	Prom.	E.E.	Prom.	E.E.	Prom.	E.E.	Prom.	E.E.	Prom.	E.E.
2013	6.752	2.301	9.479	4.868	8.247	847	10.174	1.628	9.960	2.200
2014	18.579	3.129	20.365	1.760	21.823	1.918	24.416	2.976	24.648	3.491
2015	19.128	2.049	29.693	1.585	33.636	29.35	33.548	1.263	36.308	3.404

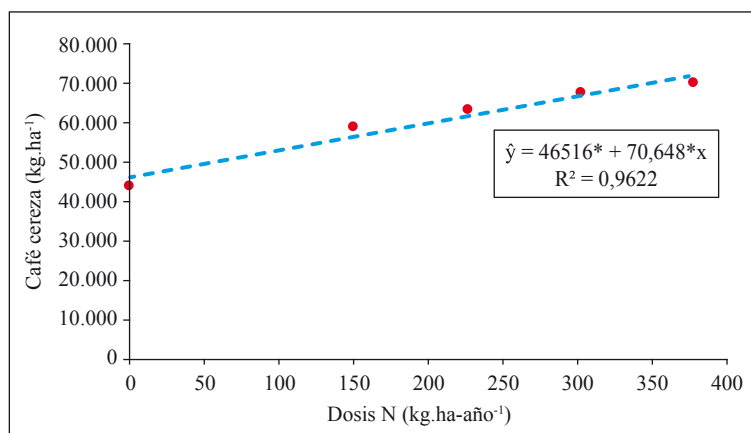


Figura 3. Producción acumulada de café cereza en función de las dosis crecientes de N.

Para las condiciones del sitio evaluado, la aplicación de N con dosis superiores a los 300 kg.ha-año⁻¹ mostró bajos incrementos en la producción acumulada de café cereza.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a todas las personas que participaron en las evaluaciones y el manejo agronómico del experimento, a Carlos Augusto Ramírez (Auxiliar de investigación de la Disciplina de Fitotecnia), a Myriam Cañón (Coordinadora de la Estación Experimental Paraguaicito) y Daniel Franco (Auxiliar de investigación de la Disciplina de Experimentación).

LITERATURA CITADA

- DÍAZ, M.C. Evaluación del dispositivo portátil SPAD-502 como indicador de la concentración de nitrógeno en plantas de café" *coffea Arabica*. Pereira : Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias Ambientales, 2014. 103 p. Tesis: Maestría en ecotecnología.
- FRANCA, A.C.; SOUZA, I.F.D.; ALVES, L.W.R.; JESUS, A.M.S. Calibração do medidor de clorofila minolta spad-502 para avaliação do conteúdo de clorofila em cafeeiro. Brasília : Embrapa café, 2007.
- GIANQUINTO, G.; GOFFARTE, J.E.; OLIVER, M.; GUARDA G.; COLAUZZP, M.; COSTA D., L.; DELLEVEDOVE. G.; VOS, J.; MACKERRON, D.K.L. Chlorophyll meters as a tool to assess the nitrogen status and to guide nitrogen fertilization of potato crop. *Potato research* 47(1/2):35-80. 2004.
- GRAVA DE G., L.J.; SANTOS, T.; VILLAS B., R.L.; LEITE J., J.B. Índice relativo de clorofila e o estado nutricional em nitrogênio durante o ciclo do cafeeiro fertirrigado. *Revista brasileira de ciência do solo* 32(1):217-226. 2008.
- GUTIÉRREZ S., M.V.; CADET P., E.; RODRÍGUEZ M., W.; ARAYA A., J.M. GreenSeeker™ y el diagnóstico del estado de salud de los cultivos. *Agronomía mesoamericana* 22(2):397-403. 2011.
- KRUGHB., L.B.; MILES, D. The solid-state chlorophyll meter, a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves: Maize genetics cooperation. *Newsletter* 68:25-27. 1994.
- MALAVOLTA, E. Fertilización foliar. p. 305-341. En: SILVA M., F. Fertilidad de suelos, diagnóstico y control. Bogotá : SCCS, 2001. 507 p.
- MARTINS, L.E.C.; FURLANI, E.; SANTOS, D.M.A.D.; FERRARI, S.; VAL, H.C.D. Avaliação de leituras spad de acordo com o modo de aplicação de nitrogênio em cafeeiro. Brasília : Embrapa Café, 2007.
- MENDOZA, M.; GONZÁLEZ, G.A.; SANTELISES, A.A.; ETCHEVERES, J.D.; RINCÓN, J.A. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra* 16(2):135-141. 1998.
- MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. 4a. ed. Bern : International potash institute, 1978. 687 p.
- MINOLTA CAMERA. Chlorophyll meter SPAD-502: Instruction manual. Osaka : Minolta, 1989. 22 p.
- NOVOAS., R.; VILLAGRANA., N. Evaluación de un instrumento medidor de clorofila en la determinación de niveles de nitrógeno foliar en maíz. *Agricultura técnica* 62(1):166-171. 2002.
- RAMÍREZ B., V.H.; MORENO B., A.M.; LÓPEZ R., J.C. Evaluación temprana de la deficiencia del nitrógeno en café y aplicaciones. *Manizales : Cenicafé*, 2012. 8 p. (Avances Técnicos No. 420).
- REIS, A.R.; FURLANI J., E.; BUZZETTI, S.; ANDREOTTI, M. Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila. *Bragantia* 65(1):163-171. 2006.
- SADEGHIAN K., S. Guía práctica fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia. *Manizales : Cenicafé*, 2008. 43 p. (Boletín Técnico No. 32).
- SADEGHIAN K., S. Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio sobre las propiedades químicas de suelos cultivados en café. *Cenicafé* 54(3):242-257. 2003.
- SADEGHIAN K, S. Respuesta de cafetales al sol y bajo semisombra a nitrógeno y su relación con la materia orgánica del suelo. *Facultad nacional de agronomía Medellín* 64(1):5781-5791. 2011.

18. SADEGHIAN K., S.; GARCÍA L., J.C.; MONTOYA R., E.C. Respuesta del café a la fertilización con N, P, K y Mg en dos fincas del departamento del Quindío. *Cenicafé* 57(1):58-69. 2006.
19. SAMBORSKI, S.M.; TREMBLAY, N.; FALLON, E. Strategies to make use of plant sensors-based diagnostic information for nitrogen recommendations. *Agronomy journal* 101(4):800-816. 2009.
20. SILVA, L.C.; SILVA F., M.P.; AGUIAR, F.A.; NAVES, V.L.; LIRAS., J.M.; RAMBAL, S.; MOUILLOT, F.; RODRIGUES, J.P.; BARBOSA, A.D. Uso do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) na avaliação do desenvolvimento de cafeeiros do sul de Minas Gerais. Curitiba : Simpósio de pesquisa dos cafés do Brasil, 2015.
21. VALENCIA A., G.E.; ARCILA P., J. Efecto de la fertilización con N, P, K, a tres niveles de la composición mineral de las hojas del café. *Cenicafé* 28(4):119-138. 1977.
22. WOOD, C.W.; REEVES, D.W.; HIMELRICH, D.G. Relationships between chlorophyll meter reading and crop chlorophyll concentration, N status, and yield: A review. *Proceedings agronomy society of New Zealand* 23:1-9. 1994.

CALIDAD FÍSICA Y SENSORIAL DEL CAFÉ CULTIVADO EN EL PAISAJE CULTURAL CAFETERO DE COLOMBIA EN CALDAS

Gloria Inés Puerta Quintero*, Jenny Paola Pabón Usaquén**

PUERTA Q., G.I.; PABÓN U., J.P. Calidad física y sensorial del café cultivado en el Paisaje Cultural Cafetero de Colombia en Caldas. Revista Cenicafé 69(1):16-31. 2018

Para contribuir a la diferenciación del café del Paisaje Cultural Cafetero de Colombia en Caldas se recolectaron 1.019 muestras de café pergamino seco en 260 fincas y 17 municipios, durante cuatro cosechas, de 2015 a 2017. Se evaluó la calidad física y sensorial del café. El 52% de las fincas se localizaron por encima de 1.600 m de altitud, en el 90% se usó la fermentación y en el 93% el secado al sol. Se presentaron diferencias significativas en la calidad física del café entre años y rangos de altitud. La mejor calidad en brocado, pasilla y factor de rendimiento en trilla (valores menores) se encontraron en las muestras del 2016 y 2017 y en fincas ubicadas por encima de 1.600 m. No hubo diferencias significativas en la calidad en taza del café entre los años de muestreo. El puntaje SCAA del café varió de 43,0 a 88,0 con un promedio de 75,7. El 20,6% de las muestras de café presentaron fermentos, astringentes y terrosos en taza que son defectos que se ocasionan por daños por broca y por fallas en los procesos del café. En Riosucio, Villamaría y Aranzazu más del 90% de las muestras de café no presentaron defectos en taza. Cuatro fincas en Anserma, Pácora y Riosucio cumplieron todos los criterios comerciales de calidad física y en taza en las cuatro cosechas. Se recomienda la aplicación sistemática de buenas prácticas en los procesos del café del PCCC para incrementar la calidad y su mercado como especial.

Palabras clave: Catación, cafés especiales, factor de rendimiento, altitud, secado, fermentación, buenas prácticas agrícolas.

PHYSICAL AND SENSORY QUALITY OF COFFEE GROWN IN THE COFFEE CULTURAL LANDSCAPE OF COLOMBIA IN CALDAS

In order to contribute to the differentiation of coffee at the Coffee Cultural Landscape of Colombia, 1,019 dried parchment coffee samples were collected on 260 farms, in 17 municipalities and during 4 harvest periods from 2015 to 2017. The physical and sensory quality of coffee was evaluated. Fifty-two percent of the farms were located above 1,600 m of altitude; fermentation was used in 90% of them and sun drying in 93%. There were significant differences in the physical quality of coffee between years and altitude ranges. The best quality in beans damaged by coffee borer, low-quality parchment coffee and threshing factor performance (lower values) were found in the samples from 2016 and 2017 and in farms located above 1,600 m. There were no significant differences in cup quality between the sampling years. The coffee SCA score varied from 43.0 to 88.0 with an average of 75.7. Twenty point six percent of the coffee samples had fermented, astringent and earthy defects in cup, which are caused by coffee berry borer and flaws in coffee processing. In Riosucio, Villamaría and Aranzazu more than 90% of the coffee samples collected did not have any cup defects. Four farms in Anserma, Pácora and Riosucio met all the commercial criteria of physical and cup quality in the four harvests. The systematic implementation of good practices in the coffee processes of the PCCC is recommended in order to increase the quality and its market as special coffee.

Keywords: Cupping, specialty coffees, threshing factor performance, altitude, drying, fermentation, good agricultural practices.

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

El Paisaje Cultural Cafetero de Colombia (PCCC) se reconoció Patrimonio de la Humanidad por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación la Ciencia y la Cultura (UNESCO) en el año 2011, como un auténtico reflejo de un proceso centenario de adaptación del hombre a condiciones geográficas y climáticas desafiantes para el cultivo del café de ladera y montaña, en el Eje Cafetero, que conserva patrones arquitectónicos, paisajísticos y de tradiciones (26).

El PCCC cubre regiones de 47 municipios en los departamentos de Caldas, Quindío, Risaralda y Norte del Valle del Cauca. En Caldas, las regiones del PCCC se ubican en 17 municipios que son: Aguadas, Anserma, Aranzazu, Belalcázar, Chinchiná, Filadelfia, La Merced, Manizales, Neira, Pácora, Palestina, Riosucio, Risaralda, Salamina, San José, Supía y Villamaría.

El café de Colombia se ha reconocido en el mercado internacional por su calidad y suavidad. Actualmente, un 30% de las exportaciones de café de Colombia se comercializan como café especial en alguna de sus categorías sostenible, de origen o preparación (11). En Caldas se producen cafés especiales en el 68% del área y se han registrado distinciones por su calidad desde el año 2004 (13), que ha permitido que consumidores del mundo conozcan al café de Caldas y paguen más al caficultor por cada kilogramo de café especial.

En los 25 municipios cafeteros en Caldas se registran 70.800 hectáreas sembradas de café, 42.500 fincas y 33.500 caficultores que representan el 6,2% de los productores del país. El departamento de Caldas aporta un 8,7% de la producción nacional, en quinta posición después de Cauca con el 9,0%, Tolima con el 12,7%, Antioquia con el 15,8% y Huila con el 18,1% (11, 13, 14).

En los 17 municipios PCCC en Caldas hay sembradas 55 mil hectáreas que corresponden a cerca del 75% del café del departamento de Caldas (14). El café en estos municipios representa entre 50% a 71% de las áreas de cultivos y es un producto de gran importancia económica, social y cultural.

La caficultura de los municipios del PCCC en Caldas sobresale en el país con indicadores de competitividad: 99,7% tecnificada, 88% cafetales jóvenes, edad promedio de 5,4 años, 86,9% del área en café sembrada en variedades resistentes a la roya como Castillo (47,9%) y Colombia (39,0%) y 13,1% en variedades tradicionales como Caturra (12,4%) y Típica (0,7%) (13, 14).

La mayor parte de las evaluaciones de la calidad del café de Caldas se han realizado con fines comerciales (en la compraventa) y educativos (en el Ritual del Café) y en los concursos de calidad del café que se promueven en los programas de cafés especiales.

Entre el 2001 y 2005 se ejecutó el proyecto para el mejoramiento de la calidad del café por medio de la prevención de mohos y de ocratoxina A (OTA) en Colombia, Kenia, Uganda, Costa de Marfil, Indonesia, India y Brasil, con apoyo de la FAO y gobiernos europeos. En 81 fincas de Manizales, Chinchiná y Palestina en Caldas, y en Santa Rosa de Cabal en Risaralda se identificaron las condiciones y facilidades para el beneficio del café y los riesgos para la calidad y la inocuidad del café (19).

Duarte (9) registró variables climáticas, socio-económicas, agronómicas y de beneficio en 63 fincas de siete veredas de Villamaría y Manizales, y no encontró asociación con un “perfil cítrico” que se había identificado en la zona en el año 2002. De otra parte, Rodríguez (25) no encontró diferencias en la

calidad del café en Caldas, en ocho regiones, ni por la altitud.

López y Correa (15) recolectaron información sobre aspectos sociales, económicos, técnicos, administrativos, agronómicos, estado fitosanitario, procesos de poscosecha y comercialización del café en fincas de las veredas, La Violeta, El Alto del Zarzo, Hoyo Frío, San Mateo, El Rosario y el Alto del Naranjo del municipio de Manizales, en las cosechas 2006 y 2007, y concluyeron que no había suficiente conocimiento ni adopción de las Buenas Prácticas Agrícolas en estas fincas.

Puerta (21) y Puerta *et al.* (24) evaluaron la calidad física y sensorial del café en relación con los suelos y la altitud del cultivo en 1.236 muestras de café, que se obtuvieron en 162 fincas durante tres años de cosechas, en los departamentos Antioquia, Quindío, Huila, Tolima, Santander, Cesar y Caldas (en los municipios de Manizales, Chinchiná, Palestina y Anserma), encontrando cafés de muy buena calidad en todos los departamentos y también café con varios defectos, principalmente fermentos, que se asociaron a malas prácticas en el desmucilaginado mecánico, la fermentación y el lavado.

Orozco *et al.* (17) evaluaron la calidad del café de 30 fincas en Pereira (Risaralda), localizadas entre 1.250 y 1.800 m de altitud, con diferentes unidades de suelo y con cultivos de las variedades Colombia y Caturra, que estaban certificados con el sello de café especial comercio justo, y concluyeron que ni la altitud, ni la variedad, ni la unidad de suelo estaban asociadas con la calidad de la bebida del café.

Entre los años 2005 a 2015 se realizó la caracterización de los sistemas de producción en

fincas en los departamentos de Nariño, Cauca, Huila, Santander, Tolima, Cesar, La Guajira y Magdalena, con muestreos de café para la evaluación de la calidad física y sensorial y los contenidos de ácidos clorogénicos, alcaloides y lípidos (16, 27). Con base en esta información actualmente se han otorgado por parte de la Superintendencia de Industria y Comercio de Colombia la Denominación de Origen del Café de Colombia (1) y varias Denominaciones de Origen Regionales como Nariño, Cauca, Huila y Santander, Tolima y Sierra Nevada (2, 3, 4, 5, 6, 7).

En el presente proyecto se realizó la caracterización técnica y se evaluó la calidad física y sensorial de muestras de café pergamino seco obtenidas en 260 fincas, ubicadas en los 17 municipios del Paisaje Cultural Cafetero de Colombia en Caldas, como parte de las actividades requeridas para la diferenciación del café de las regiones PCCC.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de fincas. Con base en el número de fincas en los 17 municipios PCCC en Caldas, registradas en el Sistema de Información Cafetera SICA de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, se seleccionaron estadísticamente 260 fincas de forma aleatoria (Tabla 1).

Muestreos. Se recolectaron 1.019 muestras de 3,0 kg de café pergamino seco, en cuatro muestreos, en las 260 fincas de 17 municipios del PCCC en Caldas, en las cosechas del segundo semestre del año 2015 (2015II), del primer y segundo semestres del año 2016, (2016I y 2016II) y la primera cosecha del año 2017 (2017I). Las muestras se empacaron en bolsas plásticas, se etiquetaron con un código único que registraba su trazabilidad y se almacenaron en cuarto frío para café pergamino seco. Los análisis de calidad del

Tabla 1. Número de fincas del muestreo de calidad en municipios del Paisaje Cultural Cafetero, PCCC en Caldas.

Municipio	Total de fincas
Aguadas	23
Anserma	20
Aranzazu	11
Belalcázar	18
Chinchiná	22
Filadelfia	11
La Merced	4
Manizales	25
Neira	19
Pácora	19
Palestina	16
Riosucio	12
Risaralda	12
Salamina	11
San José	10
Supía	12
Villamaría	15
Total	260

café se realizaron en el mismo semestre del muestreo.

Recolección de información técnica. Se registraron las características técnicas de producción y beneficio del café en cada finca, mediante un formato preparado por Cenicafé y diligenciado por el Servicio de Extensión de cada municipio, donde se recolectó información sobre la variedad cultivada, el tamaño de las fincas y las facilidades y condiciones del beneficio del café.

Análisis físicos de la calidad del café. Se utilizó la metodología de Almacafé y FNC, se determinó el porcentaje de granos brocados, pasillas y almendra sana, el factor de rendimiento en trilla. La humedad del grano se determinó en el medidor KETT calibrado para café. Se analizaron 250 g de café pergamino por muestra (10).

Análisis sensoriales de la calidad del café.

Los análisis se realizaron por catadores certificados del Ritual del Café del Comité de Caldas. Se obtuvo un solo resultado del puntaje SCAA por cada muestra analizada. En la escala SCAA puntajes inferiores a 80,0 están por debajo de calidad especial, entre 80,0 y 84,9 son muy buenos, de 85,0 a 89,9 excelentes y puntajes superiores a 90,0 se consideran de calidad excepcional.

Análisis de la información. Los datos obtenidos se analizaron mediante estadística descriptiva, análisis de varianza y comparación Duncan, nivel 5%. Para las comparaciones, las muestras se clasificaron según su procedencia por municipio, cosecha, año de muestreo y rango de altitud (menor a 1.300 m, entre 1.300 y 1.600 m y mayor a 1.600 m).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización técnica. En promedio las 260 fincas tenían 4,2 ha en café, un área mínima de 0,2 ha y un máximo de 54,5 ha. El 46,4% de las fincas tenían de 0,2 a 2,0 ha en café (Figura 1). El 90% de las fincas tenían sembradas variedades resistentes a la roya del café como las variedades Castillo® y Colombia. El 52% de las fincas estaban ubicadas por encima de 1.600 m, el 38% entre 1.300 y 1.600 m y el 10% debajo de 1.300 m (Figuras 2 y 3).

En el 90% de las fincas se usaba la fermentación natural, el 85,4% de éstas fermentaban de 12 a 18 h y el 67,8% en tanque de cemento; en el 3,2% no se secaba el café, la helda, el patio y el parabólico eran los secadores más frecuentes (Figuras 4, 5, 6 y 7). Se evidenció una disminución de los tiempos de fermentación con respecto a estudios previos (19), donde se mezclaban cafés despulpados hasta por 9 días (21).

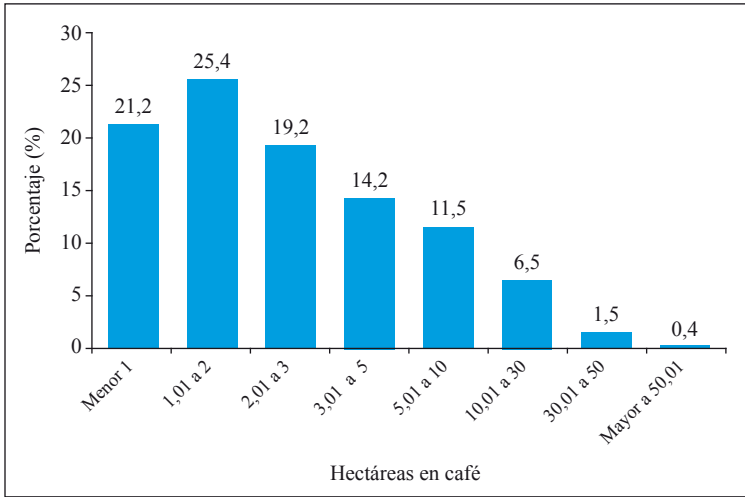


Figura 1. Área en café en las fincas del PCCC en Caldas.

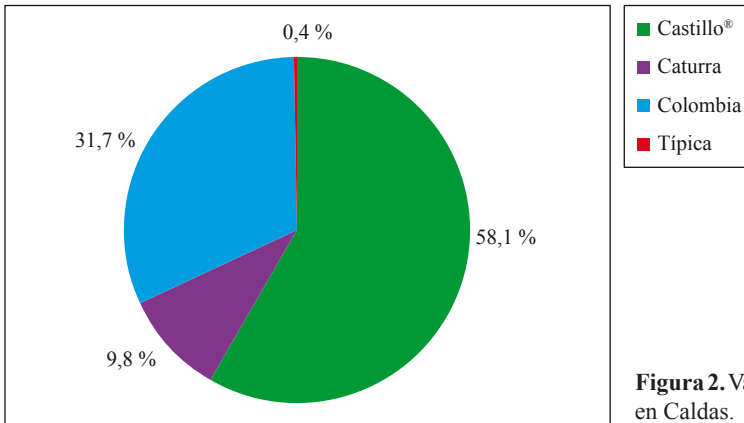


Figura 2. Variedades de café en fincas PCCC en Caldas.

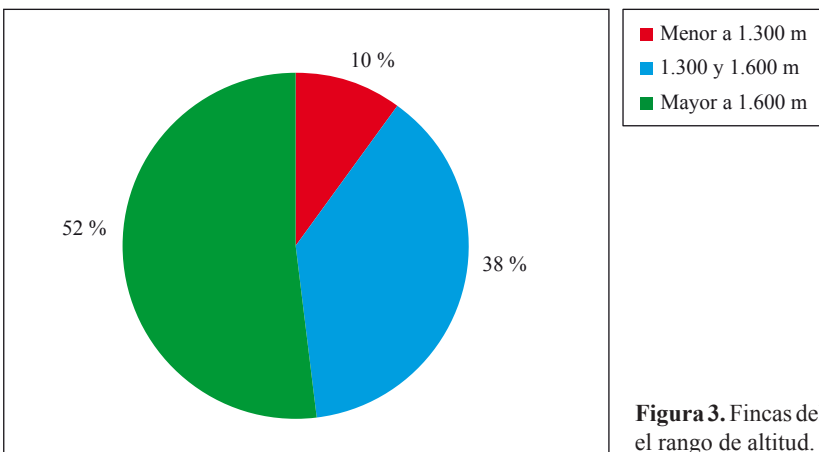


Figura 3. Fincas del PCCC en Caldas, según el rango de altitud.

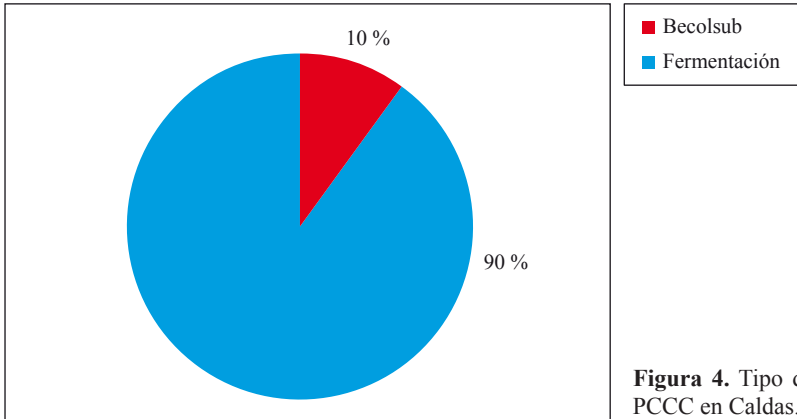


Figura 4. Tipo de beneficio en fincas del PCCC en Caldas.

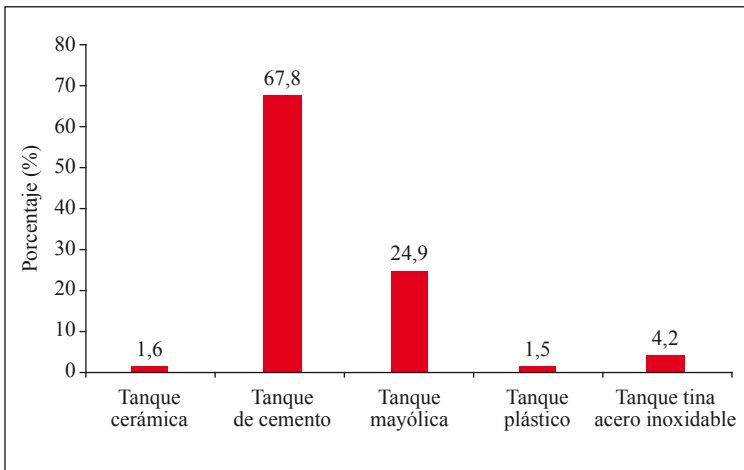


Figura 5. Tipos de recipientes en fincas del PCCC en Caldas que usaban la fermentación para el café.

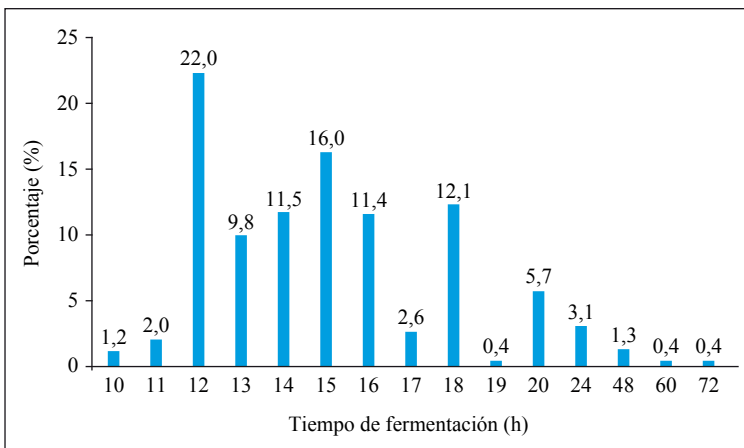


Figura 6. Tiempo de fermentación del café en fincas del PCCC que usaban la fermentación.

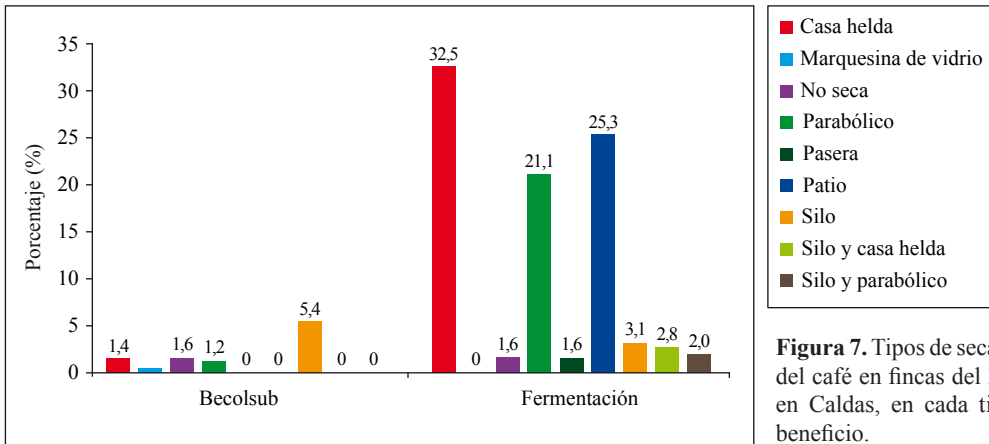


Figura 7. Tipos de secadores del café en fincas del PCCC en Caldas, en cada tipo de beneficio.

Calidad física. En la Tabla 2 se observan resultados de las variables de la calidad física del café.

Se presentaron diferencias significativas en la calidad del café entre años. La mejor calidad en cuanto a café brocado, pasilla y factor de rendimiento en trilla (valores menores) se registró en las muestras de café recolectadas en el segundo semestre del año 2016 y el primer semestre 2017 (Tabla 3).

Los porcentajes de grano brocado y pasillas tuvieron valores menores (mejor

calidad física) en las muestras procedentes de cultivos sobre 1.600 m. Así mismo, el factor de rendimiento en trilla resultó diferente entre los rangos de altitud, con un valor inferior en las muestras procedentes de cultivos por encima de 1.600 m (Tabla 4).

Para referencia, Puerta (21) encontró diferencias significativas del café brocado, pasillas, almendra sana y factor de rendimiento entre los rangos de altitud en café de los departamentos de Antioquia, Caldas, Cesar, Huila, Tolima, Quindío y Santander, así: 92,4 de factor de rendimiento en café sobre

Tabla 2. Calidad física del café de las fincas del PCCC en Caldas (cuatro muestreos).

Variable calidad física de café	Muestras	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica (n)	Límite inferior de la media (95%)	Límite superior de la media (95%)
Humedad pergamino (%)	1.019	8,2	14,7	11,0	0,9	10,9	11,1
Merma (%)	1.019	14,8	27,5	18,2	1,5	18,2	18,3
Brocado (%)	1.019	0,0	43,7	3,8	4,9	3,5	4,1
Pasilla (%)	1.019	0,1	76,2	5,5	6,2	5,1	5,9
Vinagres (%)	1.019	0,0	20,2	0,7	1,6	0,6	0,8
Almendra sana (%)	1.019	17,2	83,9	73,7	8,3	73,2	74,2
Factor de rendimiento en trilla	1.019	83,4	406,0	969	18,5	95,7	98,0

1.600 m y 96,8 en cafés de altitud inferior a 1.300 m. Díaz *et al.* (8) registraron valores del factor de rendimiento en trilla de 93,6, 91,8 y 90,6 para altitudes de 1.575 m, 1.725 m y 1.875 m, respectivamente.

Humedad del café. El 12,1% de las muestras se encontraron sobre-secadas y el 12,2% con falta de secado (Tabla 5). En Caldas la humedad varió de 8,5% a 15,5%; el 40% de las muestras de café con desviaciones por sobre-secado o por secado incompleto se relacionaron con granos decolorados y tazas con defectos a reposo y terroso (21).

Merma. Los menores valores de la merma se encontraron en el café de Supía, Pácora, Riosucio y Anserma y los mayores valores en Salamina, Belalcázar, Chinchiná y Palestina. Se halló un promedio de la merma en los 17 municipios PCCC en Caldas del 18,3%,

valor de buena calidad física con respecto al 18% base comercial de la FNC; sin embargo, se encontraron valores hasta del 27,5% asociados a las pasillas, brocados y desviaciones en la humedad del grano (Tabla 5). Montilla *et al.* (18) reportaron valores de merma entre el 17,8% y el 18,4% para café variedad Colombia.

Brocados. En todos los municipios se presentaron valores medios de café brocado superiores al 1,0%. En el café de La Merced y Supía se encontraron los menores valores de café brocado y los mayores valores se encontraron en Belalcázar, Chinchiná, Manizales y San José. Se encontró un promedio de 3,8% de café brocado en los 17 municipios del PCCC (Tabla 5).

Puerta (21) registró valores de brocados en Caldas (4,9%) y Quindío (4,6%),

Tabla 3. Diferencias de la calidad física del café del PCCC en Caldas, entre años (Duncan 5%).

Años y semestres de cosecha	Calidad física del café					
	Brocado (%)	Grupos	Pasilla (%)	Grupos	Factor de rendimiento	Grupos
2015II	3,9	B	6,4	C	96,6	B
2016I	6,6	C	8,3	D	107,0	C
2016II	2,5	A	3,0	A	91,1	A
2017I	2,4	A	4,2	B	92,9	A

Tabla 4. Diferencias de la calidad física del café del PCCC en Caldas, de acuerdo con los rangos de altitud (Duncan 5%).

Altitud (m)	Calidad física del café del productor					
	Brocado (%)	Grupos	Pasillas (%)	Grupos	Factor de rendimiento	Grupos
Menor a 1.300	6,8	A	8,0	A	106,3	A
1.300 a 1.600	4,8	B	6,3	B	98,8	B
Mayor a 1.600	2,6	C	4,4	C	93,7	C

estadísticamente diferentes de las otras procedencias (0,9% a 1,0%); 0,8% en fincas ubicadas sobre 1.600 m, comparado con las muestras cultivadas entre 1.300 y 1.600 m (2,3%) y por debajo de 1.300 m (3,8%).

Pasillas. En los municipios se obtuvo un promedio de 5,5% y un máximo de 76% de pasillas. En Supía, Riosucio, Villamaría, Pácora, Risaralda y Anserma se registraron valores medios menores a 5,0%. En el café de San José, Palestina, Chinchiná, Manizales y Neira se encontraron los mayores valores de pasillas (Tabla 5).

El alto contenido de pasillas y brocados en algunos municipios del PCCC en Caldas se asocian al fenómeno fuerte de El Niño que se presentó en Colombia durante los años 2015 y 2016. Un promedio de 8,6% de defectos (pasillas) se encontró en el café de siete departamentos y 11,5% en las muestras de Caldas (21).

Almendra sana. Los promedios de almendra sana en el café de Supía, Riosucio, Pácora y la Merced superaron el 76%, que era el valor referencia comercial. En el café de Belalcázar, San José, Palestina, Chinchiná, Neira y Manizales se encontraron los más bajos valores medios de almendra sana (Tabla 6). En los 17 municipios se registró un promedio de 73,7% de almendra sana, valor similar al 74% que se registró como promedio en siete departamentos para la almendra sana (21).

Factor de rendimiento en trilla. Los promedios de factor de rendimiento en trilla del café de Supía, Riosucio, Pácora y La Merced resultaron inferiores a 94,0 que era el valor referencia comercial, este valor varió y para principios del año 2018 el límite para bonificación era de 92,8 (12). En el café de Belalcázar, San José, Palestina,

Chinchiná, Neira y Manizales se hallaron valores superiores de 99 a 104,5 (Tabla 6). En contraste, en promedio en café de siete departamentos cafeteros de Colombia el factor de rendimiento en trilla varió de 82,3 a 142,4, con un valor promedio de 94,0 (21).

Calidad sensorial. El puntaje SCAA del café de las fincas varió de 43,0 a 88,0 con un promedio de 75,7 (Tabla 7). Se presentaron diferencias significativas en el puntaje SCAA entre rangos de altitud, con el mayor puntaje en las muestras de cultivos sobre 1.600 m (Tabla 8). No hubo diferencias en la calidad en taza entre las cosechas.

La proporción de defectos en taza como inmaduro, astringente, vinagre y terroso resultaron mayores en las muestras de altitudes inferiores a 1.300 m y el vinagre se encontró en mayor proporción en la cosecha del año 2017 (Tabla 9).

Municipios. El 20,6% de las muestras de café presentó defectos en taza (Figura 8). En Riosucio, Villamaría y Aranzazu, más del 90,0% de las muestras de café no presentaron defectos en taza. En el café de Palestina, San José, Belalcázar y Chinchiná se encontró la mayor proporción de defectos en taza como vinagres, terrosos, acres e inmaduros (Figura 9).

Para comparación, se encontró que el 67% de las muestras de café presentaron defectos fermento o *stinker* en la bebida y defecto fenólico en el 3,6% (19). También en la investigación en los siete departamentos se demostró y concluyó que el daño por broca influyó en un mayor porcentaje de defectos, un menor contenido de almendra sana, un mayor valor del rendimiento en trilla y se relacionó con los defectos leñosos, sucios, ásperos y contaminados de la bebida de café (21).

Tabla 5. Humedad, merma, brocado y pasillas en café del PCCC en Caldas, cuatro cosechas.

Municipio	Humedad pergamino (%)			Merma (%)			Brocado (%)			Pasillas (%)		
	Mínimo	Promedio	Máximo	Mínimo	Promedio	Máximo	Mínimo	Promedio	Máximo	Mínimo	Promedio	Máximo
Aguadas	8,7	10,9	13,2	14,8	18,3	22,6	0	3,5	25,4	0,5	5,1	76,2
Anserma	8,7	11,2	13,4	15,5	18,0	22,4	0	3,9	25,2	0,2	4,8	28,7
Aranzazu	9,5	11,2	12,6	15,4	18,2	20,9	0	2,8	16,1	0,5	5,0	18,7
Belalcázar	9,4	11,5	14,7	16,4	19,0	26,8	0,1	6,9	37,7	0,6	6,3	31,3
Chinchiná	9,0	11,0	13,9	15,8	18,6	27,5	0,3	5,6	29,2	0,5	6,2	22,0
Filadelfia	9,4	11,1	12,6	16,4	18,2	20,6	0,2	3	15,5	0,5	5,9	36,7
La Merced	9,5	10,9	12,1	15,8	18,2	20,3	0	0,7	3,6	0,2	5,4	24,6
Manizales	8,2	10,8	13,0	15,7	18,1	26,7	0	5,4	31,3	0,2	6,5	50,9
Neira	9,1	11,2	14,0	15,6	18,3	24,5	0	4,7	43,7	0,3	6,5	36,9
Pácora	8,9	10,8	13,0	15,5	17,7	20,2	0	1,7	12,3	0,1	4,2	35,7
Palestina	9,2	11,1	12,6	16,0	18,9	23,6	0,3	4,5	20	0,4	6,9	25,3
Riosucio	8,9	10,6	12,7	15,9	17,8	21,7	0	1,8	9,8	0,1	3,7	21,2
Risaralda	9,1	11,1	12,7	16,2	18,2	23,1	0,1	3,2	15,6	0,6	4,5	18,1
Salamina	8,5	10,8	13,4	16,2	18,5	21,6	0	2,1	14,0	0,8	5,3	17,1
San José	9,0	11,0	12,5	15,4	18,2	22,7	0,2	5,2	18,6	0,7	8,7	40,0
Supía	9,1	10,7	12,9	15,4	17,6	21,0	0	1,5	5,2	0,3	3,4	13,5
Villamaría	9,7	11,3	12,8	16,3	18,3	21,7	0,1	3,7	21,4	0,5	4,0	18,2
Promedio municipios	8,2	11,0	14,7	17,0	18,0	19,0	0	3,8	43,7	0,1	5,5	76,2
Referencias comerciales	10,0	11,0	12,0	-	18,0	-	-	1,0	-	-	-	-

Tabla 6. Almendra sana y factor de rendimiento en trilla en café PCCC en Caldas, cuatro cosechas.

Municipio	Almendra sana (%)			Factor de rendimiento		
	Mínimo	Promedio	Máximo	Mínimo	Promedio	Máximo
Aguadas	17,2	74,3	83,3	84,1	97,7	406,0
Anserma	40,7	74,4	83,2	84,1	95,6	171,9
Aranzazu	51,4	75,0	81,3	86,1	94,1	136,3
Belalcázar	40,7	69,0	81,6	85,8	103,5	171,9
Chinchiná	36,9	71,5	82,1	85,2	99,3	189,6
Filadelfia	49,7	74,0	81,9	85,5	95,5	140,8
La Merced	58,2	76,7	83,7	83,7	91,9	120,4
Manizales	24,8	72,0	83,4	83,9	101,5	282,7
Neira	29,1	71,6	82,6	84,7	100,7	240,7
Pácora	48,4	77,3	83,9	83,4	91,2	144,6
Palestina	36,2	71,3	80,8	86,6	100,0	193,4
Riosucio	62,9	77,5	82,0	85,4	90,6	111,3
Risaralda	62,5	75,3	81,6	85,8	93,3	112,0
Salamina	58,2	75,4	83,0	84,3	93,7	120,4
San José	42,1	69,4	81,5	85,9	104,1	166,2
Supía	65,1	78,1	82,6	84,8	89,8	107,5
Villamaría	59,0	75,0	82,5	84,8	93,9	118,6
Promedio en municipios	17,2	73,7	83,9	83,4	96,9	406,0
Referencias comerciales	-	76,0	-	-	92,8	-

Tabla 7. Calidad sensorial del café del PCCC en Caldas.

Atributo sensorial café productor	Muestras	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica (n)	Límite inferior de la media (95%)	Límite superior de la media (95%)
Fragancia y aroma	1.019	6,0	8,5	7,2	0,5	7,2	7,2
Acidez	1.019	6,0	8,50	7,1	0,6	7,1	7,2
Cuerpo	1.019	6,0	8,0	7,2	0,4	7,2	7,31
Sabor	1.019	6,0	8,5	7,1	0,6	7,0	7,1
Puntaje catador	1.019	6,0	8,5	7,0	0,6	7,0	7,1
Puntaje SCAA	1.019	43,0	88,0	75,7	11,5	75,0	76,4

Tabla 8. Diferencias en puntaje SCAA en el café del PCCC en Caldas, según el rango de altitud (Duncan 5%).

Rango de altitud (m)	Puntaje SCAA	Grupos
Menor a 1.300	68,6	A
1.300 a 1.600	74,3	B
Mayor a 1.600	78,1	C

Tabla 9. Proporción de defectos en taza en el café del PCCC en Caldas, según el rango de altitud y el año de cosecha.

Defecto en taza	Rango de altitud			Año de cosecha		
	Menor a 1.300 m	1.300 a 1.600 m	Mayor a 1.600 m	2015	2016	2017
Acre	0,0	0,3	0,2	0,0	0,4	0,0
Fenol	0,0	0,5	0,0	0,4	0,0	0,4
Humedad mayor a 13%	1,0	0,8	0,9	0,0	1,8	0,0
Inmaduro (astringente)	13,0	4,6	3,4	7,7	4,0	3,5
Reposo	2,0	3,4	1,7	0,0	3,8	2,0
Terroso	14,0	6,7	3,0	4,6	6,5	4,3
Vinagre	14,0	8,8	3,8	4,6	5,4	11,4
Sin defecto	56,0	75,0	87,0	82,7	78,2	78,4

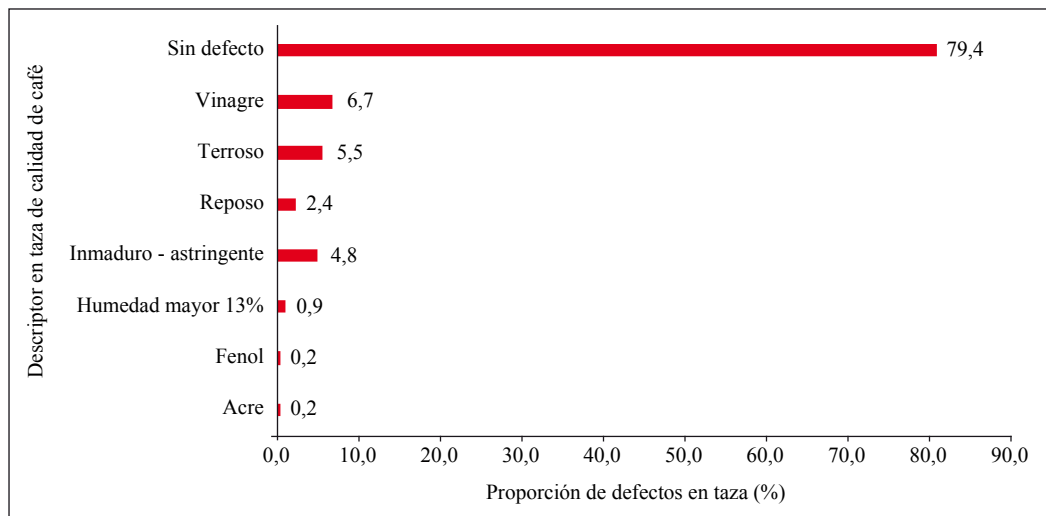


Figura 8. Proporción del café del PCCC en Caldas de buena calidad y con defectos en taza.

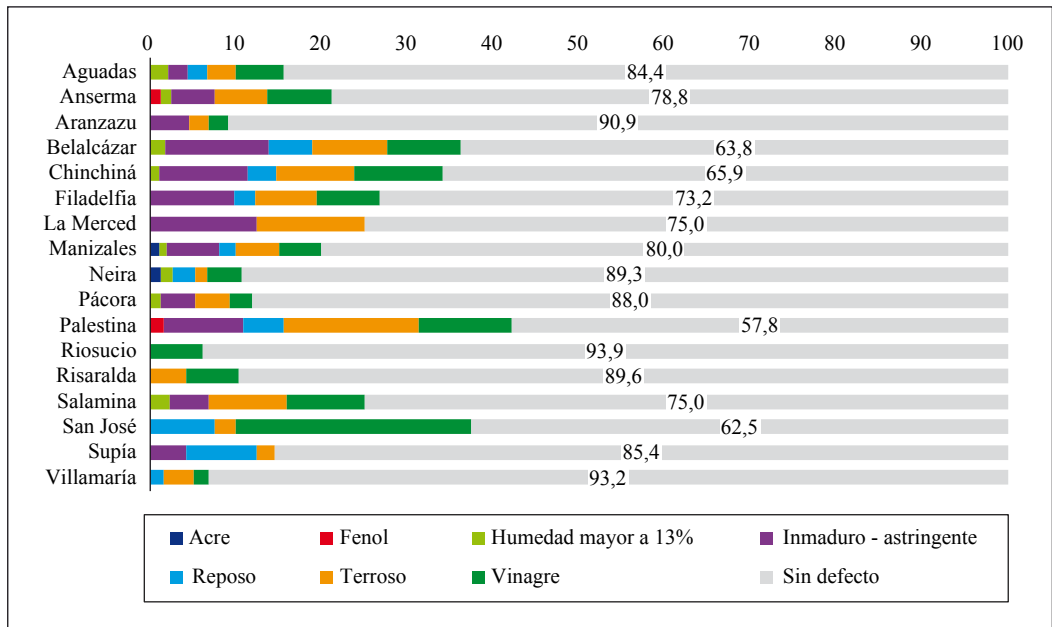


Figura 9. Proporción de defectos en taza del café del PCCC en Caldas.

El valor medio del puntaje SCAA del café se diferencié estadísticamente entre municipios. En Riosucio, se encontró un puntaje promedio de 80, que es el límite de un café especial; el café de los municipios de Villamaría, Pácora, Aranzazu, Neira y Risaralda, obtuvo en promedio más de 78 puntos. En el café de Palestina, San José y Belalcázar se encontraron los menores puntajes, con valores cercanos a 70, en promedio (Figura 10).

En resumen, los defectos vinagres, terrosos, mohosos, inmaduros y astringentes resultaron los más frecuentes en el café en la región del PCCC en Caldas, asociados a fallas en el beneficio y al daño por la broca del café.

El 52% de las fincas del PCCC en Caldas estuvieron ubicadas por encima de 1.600 m de altitud, y se destacaron por una

mejor calidad del café. La mayor altitud favoreció una menor proporción de granos brocados y pasilla, y un mayor promedio en la calidad en taza, lo cual se debe a la menor temperatura ambiente a mayor altitud, que favorece la sanidad y calidad del café (21, 22, 23, 24).

En conclusión, en todos los municipios del PCCC en Caldas se encontraron fincas que produjeron café de buena calidad en taza. En unas 20 fincas se evidenció un alto potencial para la producción de café, de calidad consistente y especial.

Para mejorar la calidad del café del PCCC en Caldas se recomienda la implementación de proyectos de mejoras de infraestructura, en particular en secado, así como la capacitación y aplicación de Buenas Prácticas de beneficio (19, 20).

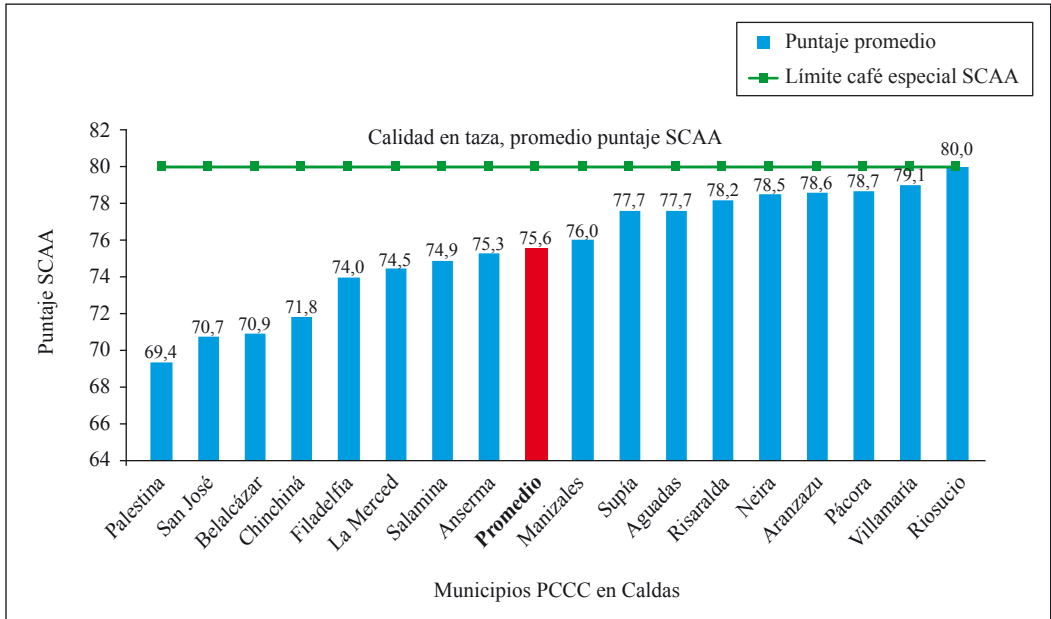


Figura 10. Puntaje SCAA en promedio, de la calidad sensorial del café de fincas del PCCC en Caldas.

AGRADECIMIENTOS

A Jorge Humberto Páez y al Servicio de Extensión de los 17 municipios PCCC en Caldas; a los señores Duván Gallego Agudelo, Lady Vargas, Valentina Osorio Pérez y a los catadores del Ritual del Café. El proyecto CAL101003 “Implementación de la Denominación de Origen del café regional y marca del Paisaje Cultural Cafetero se financió con recursos de la Gobernación de Caldas, el Sistema General de Regalías y la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

LITERATURA CITADA

1. COLOMBIA. Superintendencia de industria y comercio. Resolución No. 4819 de 2005 por la cual se decide una solicitud de protección de una denominación de origen del café de Colombia. Bogotá : La Superintendencia, 2005. 11 p.
2. COLOMBIA. Superintendencia de industria y comercio. Resolución No. 06093 del 11 de febrero de 2011 por la cual se decide una solicitud de protección de una denominación de origen del café de Nariño. Bogotá : La Superintendencia, 2011. 17 p.
3. COLOMBIA. Superintendencia de industria y comercio. Resolución No. 41788 del 16 agosto de 2011 por la cual se decide una solicitud de protección de una denominación de origen del café del Cauca. Bogotá : La Superintendencia, 2011. 16 p.
4. COLOMBIA. Superintendencia de industria y comercio. Resolución No. 017989 del 16 de abril de 2013 por la cual se decide una solicitud de protección de una denominación de origen del café del Huila. Bogotá : La Superintendencia, 2013. 27 p.
5. COLOMBIA. Superintendencia de industria y comercio. Resolución No. 50042 del 25 de agosto de 2014 por la cual se decide una solicitud de protección de una denominación de origen del café de Santander. Bogotá : La Superintendencia, 2014. 28 p.
6. COLOMBIA. Superintendencia de industria y comercio. Resolución No. 2458 del 30 de enero de 2017 por

- la cual se decide una solicitud de protección de una denominación de origen del café del Tolima. Bogotá : La Superintendencia, 2017.
7. COLOMBIA. Superintendencia de industria y comercio. Resolución No. 2484 del 30 de enero de 2015 por la cual se decide una solicitud de protección de una denominación de origen al café de la Sierra Nevada. Bogotá : La Superintendencia, 2017.
 8. DÍAZ, A.M.; RIVERA G., J.M.; SÁNCHEZ A., O.D.; ARROYAVE C., A.M. Identificación de la calidad sensorial de cafés especiales en tres latitudes aplicando diferentes tiempos de fermentación natural con caficultores de los municipios de Supía, Riosucio, Caldas y Quinchía Risaralda. Investigaciones de Unisarc 8(1/2):32-40. 2010.
 9. DUARTE C., A.F. Determinación de los factores que inciden sobre el perfil de taza en sistemas de producción de café "Alto del Naranjo" de Villamaría y Manizales. Manizales : Universidad de Caldas, 2006. 120 p.
 10. FNC. Compra de café por factor de rendimiento. Ibagué : Comité de cafeteros del Tolima, 2001. 11 p.
 11. FNC. Cafés especiales. [En línea]. Bogotá : La Federación, (s.f.). Disponible en internet: https://www.federaciondecafeteros.org/particulares/es/nuestro_cafe/cafes_especiales/. Consultado en febrero del 2018.
 12. FNC. Tabla de precio interno de referencia para la compra de café pergamino seco por carga de 125 kg. [En línea]. Bogotá : La Federación, 2018. Disponible en internet: https://www.federaciondecafeteros.org/static/files/precio_cafe.pdf. Consultado en febrero del 2018.
 13. FNC. Comité departamental de cafeteros de Caldas. 90 años construyendo bienestar y calidad de vida para las familias cafeteras de Caldas. (Manizales) : Comité departamental de cafeteros de Caldas : FNC, 2017. 40 p. Disponible en internet: <http://www.recintodelpensamiento.com/ComiteCafeteros/ElCaficultor/Periodico/2017-08-11-90anos-comite-caldas.pdf>. Consultado en febrero del 2018.
 14. COMITÉ departamental de cafeteros de Caldas. Informe de gestión 2016. (Manizales) : El comité, 2016. 76 p. Disponible en internet: <http://www.recintodelpensamiento.com/ComiteCafeteros/Informes/2016.pdf>. Consultado en febrero del 2018.
 15. LÓPEZ M., F.J.; CORREA D., L.H. Caracterización agroecológica de la adopción de buenas prácticas agrícolas BPA en el cultivo de café en el municipio de Manizales Caldas Colombia. Agronomía 14(2):85-104. 2006.
 16. OBERTHUR, T.; LÄDERACH, P.; POSADA S., H.E.; FISHER, M.J.; SAMPER, L.F.; ILLERA, J.; COLLET, L.; MORENO, E.; ALARCON, R.; VILLEGAS H., A.M.; USMA, H.; PÉREZ H., C.; JARVIS, A. Strengthening the implementation of denominations of origin for coffee in the Huila, Tolima, Santander, Santander Norte, César and Magdalena departments of Colombia: Relationships between environmental factors and inherent quality characteristics of green and roasted coffee beans. Cali : CIAT : FNC, 2008. 162 p.
 17. OROZCO C., N.; GUACAS S., A.; BACCA, T. Caracterización de fincas cafeteras por calidad de la bebida y algunas condiciones ambientales y agronómicas. Revista de ciencias agrícolas 28(2):9-17. 2011.
 18. MONTILLA P., J.; ARCILA P., J.; ARISTIZÁBAL L., M.; MONTOYA R., E.C.; PUERTA Q., G.I.; OLIVEROS T., C.E.; CADENA G., G. Caracterización de algunas propiedades físicas y factores de conversión del café durante el proceso de beneficio húmedo tradicional. Cenicafé 59(2):120-142. 2008.
 19. PUERTA Q., G.I. Buenas prácticas para la prevención de los defectos de la calidad del café: Fermento reposado fenólico y mohoso. Manizales : CENICAFÉ, 2015. 12 p. (Avances Técnicos No. 461).
 20. PUERTA Q., G.I. Calidad del café. p. 81-110. En: CENICAFÉ. Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura. Chinchiná : FNC : CENICAFÉ, 2013. 3 vols.
 21. PUERTA Q., G.I. Calidad física del café de varias regiones de Colombia según altitud suelos y buenas prácticas de beneficio. Cenicafé 67(1):7-40. 2016.
 22. PUERTA Q., G.I. Factores procesos y controles en la fermentación del café. Chinchiná : Cenicafé, 2012. 12 p. (Avances Técnicos No. 422).
 23. PUERTA Q., G.I.; ECHEVERRY M., J.G. Fermentaciones controladas de café: Tecnología para agregar valor a la calidad. Chinchiná : Cenicafé, 2015. 12 p. (Avances Técnicos No. 454).
 24. PUERTA Q., G.I.; GONZÁLEZ R., F.O.; CORREA P., A.; ÁLVAREZ L., I.E.; ARDILA C., J.A.; GIRÓN O., O.S.; RAMÍREZ Q., C.J.; BAUTE B., J.E.;

SÁNCHEZ A., P.M.; SANTAMARÍA B., M.D.;
MONTROYA, D.F. Diagnóstico de la calidad del café
según altitud suelos y beneficio en varias regiones
de Colombia. *Cenicafé* 67(2):15-51. 2016.

25. RODRÍGUEZ R., A.A. Caracterización fisicoquímica
y sensorial del café del departamento de Caldas.
Chinchiná : *Cenicafé*, 1992. 1 p.
26. UNESCO. Convention concerning the protection of the
world cultural and natural heritage. Saint Petersburg

: World heritage committee, 2012. 24 p. Disponible
en internet: <http://whc.unesco.org/archive/2012/whc12-36com-8B-Add-en.pdf>. Consultado en
febrero del 2018.

27. VILLEGASH, A.M. Caracterización de los sistemas de
producción en la denominación de origen protegido
café de Colombia en el departamento de Santander.
Manizales : Universidad de Caldas. Facultad de
ciencias agropecuarias, 2010. 132 p.

EFFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE LA DURACIÓN Y SOBREVIVENCIA DE *Hypothenemus hampei* EN DIETA ARTIFICIAL CENIBROCA

Marisol Giraldo Jaramillo*

GIRALDO J., M. Efecto de la humedad relativa sobre la duración y sobrevivencia de *Hypothenemus hampei* en dieta artificial Cenibroca. Revista Cenicafé 69(1):32-39. 2018

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) es una de las principales plagas del cultivo del café a nivel mundial, la biología y el comportamiento son afectados por la temperatura, humedad y disponibilidad de alimento, pero existe poca información sobre el efecto de la humedad. Este estudio, tuvo como objetivo evaluar el efecto de la humedad relativa del aire sobre la duración y viabilidad de los estados inmaduros de broca del café. Los resultados mostraron que las diferentes condiciones higrométricas evaluadas no afectaron la duración de cada uno de los estados biológicos, pero impactaron negativamente la sobrevivencia de los huevos y las larvas, siendo las humedades de 30% y 90% donde se presentaron las mayores mortalidades. Estos resultados pueden ayudar a ajustar estrategias de control cultural dentro del MIP para mitigar el impacto en los frutos caídos en el suelo y mantener las poblaciones del insecto por debajo del nivel de daño económico.

Palabras clave: Condiciones higrométricas, desarrollo, viabilidad, broca del café, frutos del suelo.

EFFECT OF RELATIVE HUMIDITY ON DEVELOPMENTAL TIME AND SURVIVAL OF *Hypothenemus hampei* ON A CENIBROCA ARTIFICIAL DIET

The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) is one of the main insect pests of coffee crops worldwide. Its biological features and behavior are affected by temperature and food availability, but there is little information about the effect of humidity. This study aimed to evaluate the effect of relative air humidity on duration and survival of the CBB immature stages. The results showed that different evaluated hygrometric conditions did not affect the duration of each of the CBB biological stages, but they negatively impacted the survival of the eggs and larvae. The highest mortality rates occurred at humidities of 30% and 90%. These results are useful to adjust cultural control strategies within the IPM approach in order to reduce the impact of coffee fruits that have dropped to the ground and to keep the insect populations below economic damage levels.

Keywords: Hygrometric conditions, development, survival, coffee berry borer, fallen fruits.

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

La temperatura es el factor físico más importante, pues afecta aspectos biológicos como reproducción, fecundidad, duración de desarrollo, tasas de emergencia y la longevidad de los insectos (4, 7, 17, 26); otro factor abiótico determinante y poco estudiado es la humedad relativa del aire, debido a que condiciones de baja o alta humedad pueden ser perjudiciales para la reproducción y el desarrollo de algunas especies (4, 19, 27). Potencialmente, la variabilidad climática, con alteraciones de los patrones térmicos de lluvias y humedad, pueden afectar diferentes aspectos del ciclo de vida y ecología de los insectos, especialmente aquellos relacionados con la disponibilidad de energía y humedad (18, 23).

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) (Ferrari, 1867) es considerada la plaga más importante en el cultivo del café a nivel mundial, por atacar directamente el grano, ocasionando pérdidas de peso, depreciando el producto y generando problemas de calidad de la bebida, lo cual reduce significativamente los ingresos de los productores (5, 8, 20, 24).

Diversos trabajos han sido desarrollados para determinar el ciclo de vida de *H. hampei* en el laboratorio (6, 7, 21, 25, 28, 29, 30, 31, 32), concluyendo que el desarrollo de los estados inmaduros y la sobrevivencia dependen principalmente de la temperatura y la presencia de alimento; Baker *et al.* (3), encontraron que la humedad relativa del aire juega un papel importante en la sobrevivencia de los adultos y estados inmaduros, ya que humedades inferiores al 50% pueden aumentar la mortalidad de este insecto, de igual manera afecta la emergencia de las brocas adultas en búsqueda de frutos para colonizar, debido a que éstas solo abandonan los frutos ante altas humedades.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar en el laboratorio, la duración y sobrevivencia de los estados inmaduros de *H. hampei* en dieta artificial Cenibroca, en cuatro humedades relativas (30%, 50%, 70% y 90%), a una temperatura constante de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y escotofase de 24 horas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue desarrollada en el laboratorio de Biología de Insectos del Departamento de Entomología y Acarología de la Escuela Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidad de São Paulo, Piracicaba, Brasil (latitud $22^\circ 42' 51,0366''\text{S}$, longitud $47^\circ 37' 41,556''\text{O}$).

Para iniciar la cría de *H. hampei* se recolectaron frutos de *Coffea arabica*, que estuvieran infestados por broca, en los municipios de Piracicaba (latitud $22^\circ 42' 51,0366''\text{S}$, longitud $47^\circ 37' 41,556''\text{O}$) y Campinas (latitud $22^\circ 52' 30,8274''\text{S}$, longitud $47^\circ 41' 44,5584''\text{O}$), São Paulo, Brasil; los cuales fueron llevados al laboratorio de biología de insectos en el Departamento de Entomología y Acarología de ESALQ-USP en Piracicaba.

Los frutos recolectados fueron dispuestos en cajas plásticas cubiertas con tela tipo tul. Diariamente se realizó la recolección de las hembras emergidas de los frutos, estos insectos fueron transferidos a café pergamino con humedad del 55% aproximadamente, bajo condiciones de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa de $65 \pm 10\%$ y escotofase de 24 horas, para posteriormente recuperar las hembras (G₁ = Generación 1).

Las hembras (G₁) recolectadas del café pergamino fueron transferidas a recipientes de vidrio (borosilicato 24-400, tipo *screw* transparente, de 20 mL y dimensiones 28

x 57 mm y tapa de rosca fenólica, con revestimiento en PTFE/caucho, para recipientes de vidrio 24-400, blancos), conteniendo 5 mL de dieta artificial (Tabla 1), para la obtención de los huevos para ser utilizados en el experimento.

Tabla 1. Composición de la dieta artificial Cenibroca (15), para cría de *Hypothenemus hampei*.

Componente	Cantidad ^a
Carregenina	10,0 g
Agua	993,0 mL
Café	150,0 g
Sacarosa	10,0 g
Caseína	15,0 g
Levadura de cerveza	15,0 g
Ácido benzoico	1,0 g
Solución vitamínica ^b	7,4 ml
Sales de Wesson	0,8 g
Formaldehído 37%	2.650 µL
Methyl parahydroxibenzoato (Nipagin [®])	1,33 g

^aGiraldo-Jaramillo y Parra (15); ^bNiacinamida: 1,00 g; calcio pantothenato: 1,00 g; Riboflavina: 0,50 g; Tiamina: 0,25 g; Piridoxina: 0,25 g; ácido fólico: 0,02 mg; Biotina: 0,02 mg; Vitamina B12 (1.000 mg/mL): 2,00 mL.

Biología de *H. hampei* en diferentes humedades relativas del aire

La temperatura seleccionada para realizar los bioensayos fue de 25±1°C, por ser la condición que presenta mejor desempeño en cuanto a la duración y la sobrevivencia de los estados inmaduros (14) y escotofase de 24 horas. El experimento se mantuvo en cámaras climatizadas tipo BOD, con humedades relativas controladas de 30±10%, 50±10%, 70±10% y 90±10%.

Se tomaron huevos de 24 horas de edad, procedentes de las hembras G1, que fueron colocados individualmente en cajas

de cultivo de 24 pozos de Techno plastic products[®] referencia 920024, conteniendo la dieta artificial para broca del café (3-4 mL de dieta/pozo) (14, 15).

Para el acompañamiento diario hasta la fase adulta, para cada humedad relativa fue evaluada una repetición, constituida por una población de 400 individuos, colocando un huevo por pozo, donde se contabilizó: la duración de desarrollo de cada estado biológico y sobrevivencia desde huevo hasta adulto. Las dietas al inicio del experimento tenían una humedad del 55%-60%, la humedad de las dietas fue determinada a través del peso (medición cada 5 días), cuando éstas se encontraban con menos del 20% de humedad o con presencia de microorganismos, eran reemplazadas por nuevas. La normalidad y homocedasticidad de los datos de duración, sobrevivencia de las fases de huevo, larva, prepupa y pupa de *H. hampei*, fueron verificadas por medio de las pruebas de Bartlett (P<0,05) y Shapiro-Wilk (P<0,05).

Los parámetros biológicos duración y sobrevivencia se compararon por el modelo lineal generalizado GLM (familia Poisson). Se realizaron comparaciones múltiples por contraste, con la prueba de Tukey (P≤0,05) en el programa SAS, *Statistical Analyses System* (33).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biología de *H. hampei* en diferentes humedades relativas del aire

Para la duración en días, en los diferentes estados de desarrollo no se observaron diferencias estadísticas significativas (P<0,05), pero en la viabilidad se presentaron diferencias estadísticas en las humedades relativas estudiadas (Tabla 2).

En el estado de huevo, la duración en días fue estadísticamente igual, pero en la viabilidad se presentaron diferencias en las humedades extremas (Tabla 2), los huevos expuestos a las humedades del 30% y 90%, fueron afectados de diferente manera. En las humedades bajas se observó desecamiento del corion y, por ende, muerte del embrión, mientras que en la humedad del 90% se observó proliferación de agentes contaminantes tipo hongos. Estos resultados son concordantes con los registrados por Baker *et al.* (3), quienes mencionan que las bajas humedades relativas (<50%) afectan la sobrevivencia de los diferentes estados biológicos de *H. hampei*.

En el estado de larva se presentó un comportamiento similar a la fase de huevo, sin diferencias estadísticas significativas en la duración, pero la viabilidad fue diferente en las humedades relativas extremas (30% y 90%). Esta situación puede explicarse, debido a que las larvas en la humedad del 30% presentaron una mortalidad del 28%, donde los insectos se apreciaban deshidratados, así mismo el sustrato alimenticio presentó pérdida de agua acelerada, haciéndolo poco consumible por el insecto; en la humedad relativa del 90%, fue común la presencia de agentes contaminantes tipo hongos, que deterioran rápidamente el alimento y se observaron larvas colonizadas por dichos

Tabla 2. Duración y viabilidad media (\pm DE) de las fases de huevo, larva, prepupa, pupa, período huevo-adulto de *Hypothenemus hampei*, en cuatro humedades relativas del aire constantes, en la dieta artificial Cenibroca (15). Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y escotofase: 24 horas.

Humedad relativa (%)	Duración (días) *					
	N	Huevo	Larva	Prepupa	Pupa	Huevo-adulto
30	400	4,2 \pm 0,6 a	8,7 \pm 0,8 a	4,9 \pm 0,9 a	5,3 \pm 0,7 a	23,3 \pm 1,3 a
50	400	4,1 \pm 0,7 a	8,8 \pm 0,9 a	4,9 \pm 0,9 a	5,4 \pm 0,6 a	23,2 \pm 1,3 a
70	400	4,4 \pm 0,5 a	8,6 \pm 0,9 a	5,0 \pm 0,9 a	5,3 \pm 0,7 a	23,4 \pm 1,4 a
90	400	4,2 \pm 0,7 a	8,9 \pm 0,8 a	4,9 \pm 0,9 a	5,3 \pm 0,6 a	23,4 \pm 1,3 a
F		0,922	3,008	0,008	1,685	1,082
gl		3	3	3	3	3
P		0,337	0,0832	0,928	0,195	0,298

Humedad relativa (%)	Viabilidad (%)					
	N	Huevo	Larva	Prepupa	Pupa	Huevo - adulto
30	400	79 \pm 9,6 b	72 \pm 2,9 b	85 \pm 5,1a	97 \pm 2,1 a	47 \pm 3,4 b
50	400	92 \pm 3,3 a	94 \pm 2,9 a	92 \pm 2,6a	98 \pm 1,0 a	75 \pm 3,5 a
70	400	96 \pm 1 a	90 \pm 1,6a	94 \pm 1,3 a	96 \pm 1,1 a	78 \pm 6,4 a
90	400	81 \pm 1,5b	78 \pm 2,9b	91 \pm 3,1 a	96 \pm 1.2 a	55 \pm 1,2 b
F		4,639	1,408	1,058	0,818	0,844
gl		3	3	3	3	3
P		<0,0001	<0,0001	0,321	0,381	<0,0001

Promedios seguidos por la misma letra, en las columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $P < 0,05^*$) El número de repeticiones es dado por el valor de n.

organismos, lo cual posiblemente contribuyó con la mortalidad de los mismos.

Las fases de prepupa y pupa no presentaron diferencias estadísticas para la duración y la sobrevivencia, esta situación puede deberse a que en estas fases no hay proceso de ingesta de alimento, razón por la cual, el estado del sustrato alimenticio no es determinante y las mortalidades registradas pueden estar relacionadas con el desecamiento o contaminación de los estados biológicos.

La duración total del ciclo de huevo hasta adulto fue estadísticamente similar; la sobrevivencia total presentó diferencias en las humedades del 30% y 90% con relación a las otras evaluadas, este efecto es el resultado de las bajas sobrevivencias observadas en las fases de huevo y larva.

De acuerdo con Godfrey y Holtzer (16), el período de incubación y el porcentaje de eclosión de los huevos de los insectos pueden sufrir alteraciones debido a las altas temperaturas y bajas humedades del aire o del suelo. El presente trabajo demostró el efecto que tiene la humedad relativa sobre el desarrollo de *H. hampei*, sin afectar la duración de los estados inmaduros, pero sí su sobrevivencia; Baker *et al.* (3) encontraron que humedades relativas superiores al 93% favorecen la sobrevivencia de los adultos, pudiendo generar más progenie, pero humedades relativas inferiores del 55% tienen un impacto negativo en la reproducción y sobrevivencia, debido a que las brocas adultas abandonan los frutos muy posiblemente en busca de mejores condiciones de humedad (2).

En esta investigación las humedades extremas (30%-90%) fueron menos favorables para la sobrevivencia de los estados inmaduros, ya que posiblemente la condición del sustrato alimenticio no fue conveniente para el insecto.

La temperatura y la humedad son dos factores abióticos importantes en la comprensión de las dinámicas poblacionales de *H. hampei*. De acuerdo a trabajos desarrollados por Giraldo (14) y Jaramillo *et al.* (21), existe una relación entre el desarrollo y sobrevivencia en función de la temperatura, a mayor temperatura menor desarrollo y mayor sobrevivencia en la franja térmica de 18 a 28°C, a partir de esta temperatura el efecto sobre el insecto es negativo, con mayor duración de los estados biológicos y disminución en la sobrevivencia, afectando así parámetros reproductivos, dando como resultado menor cantidad de huevos y menores tasas de crecimiento poblacional.

Estos resultados pueden ayudar a generar o ajustar estrategias de control cultural, implementadas dentro de un programa de manejo integrado de broca del café (MIB), debido a que, al manipularse el microclima de los cafetales pueden generarse condiciones poco favorables para el desarrollo del insecto y que impacten la sobrevivencia de los estados inmaduros. De acuerdo con trabajos desarrollados por Chamorro *et al.* (10), después de la cosecha pueden quedar alrededor del 10% de frutos en el árbol y el suelo, siendo esos frutos considerados como reservorios, donde la broca puede continuar con su reproducción; además, los frutos en el suelo durante períodos secos perduran por más tiempo, permitiendo la emergencia de un mayor número de insectos, hasta por 100 días (9), mientras que en períodos lluviosos estos valores disminuyen (11), posiblemente por las altas humedades del suelo que favorecen la descomposición de los frutos, afectando la calidad del alimento e impactando negativamente la sobrevivencia de los estados inmaduros de broca del café.

Los frutos en el suelo son una problemática recurrente en la caficultura de Colombia, esta caída ocurre por factores climáticos, fisiológicos

(1) y por las labores de cosecha (22), por lo que se han desarrollado diversos trabajos para minimizar esta pérdida y disminuir las poblaciones de broca del café resultantes de estos frutos (12). Podría estudiarse la posibilidad de usar coberturas vegetales muertas y microorganismos que ayuden a la descomposición en los platos del café, ya que éstas ayudarían a incrementar la humedad de esta zona, acelerando el proceso de desintegración de los frutos remanentes en el suelo después de la cosecha y así disminuir la cantidad de brocas que podrían emerger de ellos. Constantino *et al.* (11), encontraron que, por cada fruto de café dejado en el suelo, a una temperatura media de 22,5°C, pueden generarse alrededor de 590 individuos de *H. hampei* en un lapso de cinco meses, mostrando la importancia de minimizar el impacto de estos frutos.

El uso de coberturas vegetales en la caficultura colombiana, es importante, especialmente en aquellas regiones localizadas a 10°22' N y -73°38'O, por los regímenes de distribución de las lluvias donde la alternativa empleada para mitigar el impacto negativo en el cultivo del café es la asociación con árboles de sombrío que ayuden a conservar la humedad dentro del agrosistema. Farfán *et al.* (13), evaluaron el efecto del uso de coberturas muertas o *mulch* con efectos favorables sobre la producción de café, abriendo la posibilidad de investigar el impacto que puede tener el uso de estas coberturas para ayudar a modificar las condiciones de humedad del suelo en el plato y el impacto sobre las poblaciones de broca en los frutos del suelo.

También es necesario determinar el efecto de la interacción de la temperatura con la humedad relativa, para determinar cuáles serían los efectos sobre el crecimiento de las poblaciones de broca del café, que ayudarían

a soportar mejor el entendimiento de las dinámicas que se observan en el campo y así ajustar mejor la toma de decisiones de control.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de biología de insectos del departamento de Entomología y Acarología de la escuela superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidad de Sao Paulo, ESALQ-USP, Piracicaba, Sao Paulo, Brasil; a la doctora Esther C. Montoya de la Disciplina de Biometría por la ayuda en los análisis estadísticos.

LITERATURA CITADA

1. ACOSTA A., R.; OLIVEROS T., C.E.; RAMÍREZ G., C.A.; SANZ U., J.R. Recolección de frutos de café caídos al suelo. *Cenicafé* 57(4):312-319. 2006.
2. BAKER, P.S.; BARRERA, J.F.; RIVAS, A. Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. *Journal of applied ecology* 29(3):656-662. 1992.
3. BAKER, P.S.; RIVAS, A.; VALBUENA, R.; LEY, C.; BARRERA, J.F. Abiotic mortality factors of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Entomologia experimentalis et applicata* 71(3):201-209. 1994.
4. BALE, J.; MASTERS, G.J.; HODKINSON, I.D.; AWMACK, C.; BEZEMER, M. Herbivory in global climate change research: Direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global change biology* 8(1):1-16. 2002.
5. BENAVIDES M., P.; GIL P., Z.N.; CONSTANTINO C., L.M.; VILLEGAS G., C.; GIRALDO J., M. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae). p. 216-225. En: CENICAFÉ. Manual cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura. Manizales: FNC: Cenicafé, 2013. 3 vols.
6. BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-do-café *Hypothenemus hampei*

- (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Ipidae). Arquivos do instituto biologico 14:31-72. 1943.
7. BRUN, L.O.; GAUDICHON, V.; WIGLEY, P.J. An artificial diet for continuous rearing of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Insect science and its application 14(5/6):585-587. 1993.
 8. BUSTILLO P., A.E.; CÁRDENAS M., R.; VILLALBA G., D.A.; BENAVIDES M., P.; OROZCO H., J.; POSADA F., F.J. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná : Cenicafé, 1998. 134 p.
 9. CASTAÑO, A.; BENAVIDES M., P.; BAKER, P. Dispersión de *Hypothenemus hampei* en cafetales zoqueados. Cenicafé 56(2):142-150. 2005.
 10. CHAMORRO, G.E.; CARDENAS, R.; HERRERA, A. Evaluación económico y de la calidad en taza de café proveniente de diferentes sistemas de recolección manual, utilizables como control en cafetales infestados de *Hypothenemus hampei*. Cenicafé 46(3):164-175. 1995.
 11. CONSTANTINO C., L.M.; GIL P., Z.N.; BUSTILLO P., A.E.; BENAVIDES M., P. Impacto de los frutos de café caídos al suelo e infestados por broca, *Hypothenemus hampei*, sobre la infestación en el árbol. Medellín : Sociedad colombiana de entomología, 2009.
 12. CONSTANTINO C., L.M.; OLIVEROS T., C.E.; BENAVIDES M., P.; SERNA G., C.A.; RAMÍREZ G., C.A.; MEDINA R., R.D.; ARCILA M., A. Dispositivo recolector de frutos de café del suelo para el manejo integrado de la broca. Cenicafé 68(1):22-37. 2017.
 13. FARFÁN V., F.F.; BAUTE B., J.E.; GARCÍA L., J.C. Efecto de las coberturas arbórea y vegetal muerta sobre la producción de café, en la zona cafetera norte de Colombia. Cenicafé 59(1):29-38. 2008.
 14. GIRALDO J., M. Zoneamento de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) e *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842), pragas do cafeeiro no Brasil e na Colômbia, com base nas exigências térmicas. Piracicaba : USP : ESALQ, 2016. 156 p. Tesis: Doutor em ciencias área entomologia.
 15. GIRALDO J., M.; PARRA, J.R.P. Artificial diet adjustments for Brazilian strain of *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae). Coffee science 13(1):132-135. 2018.
 16. GODFRE, L.D.; HOLTZER, T.O. Influence of temperature and humidity on European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) egg hatchability. Environmental entomology 20(1):8-14. 1991.
 17. HARRISON, W.W.; KING, E.G.; OUZTS, J.D. Development of *Trichogramma exiguum* and *T. pretiosum* at five temperature regimes. Environmental entomology 14(2):118-121. 1985.
 18. HANCE, T.; BAAREN, J.V.; VERNON, P.; BOIVIN, G. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annual review of entomology 52:107-12. 2007.
 19. HUGHES, L. Biological consequences of global warming: Is the signal already apparent?. Trends in ecology and evolution 15(2):56-61. 2000.
 20. JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; BAKER, P. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) searching for sustainable control strategies. Bulletin entomological research 96(3):223-233. 2006.
 21. JARAMILLO, J.; CHABI O., A.; KAMONJO, C.; JARAMILLO, A.; VEGA, G. Thermal tolerance of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*: Predictions of climate change impact on a tropical insect pest. PLoS One 4(8):e6487. 2009.
 22. MARTÍNEZ, R.A.; MONTOYA R., E.C.; VÉLEZ, J.C.; OLIVEROST., C.E. Estudio de tiempos y movimientos de la cosecha manual del café en condiciones de alta pendiente. Cenicafé 56(1):50-66. 2005.
 23. MENENDEZ, R. How are insects responding to global warming? Tijdschrift voor entomologie 150(2):355-365. 2007.
 24. MONTOYA R., E.C. Caracterización de la infestación del café por la broca y el efecto del daño en la calidad de la bebida. Cenicafé 50(4):245-258. 1999.
 25. MUÑOZ, R. Ciclo biológico y reproducción partenogénica de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* (Ferr). Turrialba 39(3):415-421. 1989.
 26. NOLDUS, L.P.J.J. Semiochemicals, foraging behavior and quality of entomophagous insects for biological control. Journal of applied entomology 108(1/5):425-451. 1989.
 27. PARRA, J.R.P. A biologia de insetos e o manejo de pragas: Da criação em laboratório à criação em

- campo. p. 1-29. En: GUEDES, J.V.C.; COSTA, I.D. DA; CASTIGLIONI, E. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria : UFSM : CCR : DFS, 2000. 248 p.
28. PORTILLA, M. Desarrollo y evaluación de una dieta artificial para la cría masiva de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Cenicafé* 50(1):24-38. 1999.
29. PORTILLA, M.; STRETT, D. Nuevas técnicas de producción masiva automatizada de *Hypothenemus hampei* sobre la dieta artificial Cenibroca modificada. *Cenicafé* 57(1):37-50. 2006.
30. PORTILLA, M.; MORALES R., J.A.; ROJAS, M.G.; BLANCO, C.A. Life tables as tools of evaluation and quality control for arthropod mass production. p. 241-275. En: MORALES R., J.A.; ROJAS, M.G.; SHAPIRO, L. Mass production of beneficial organisms. Palo Alto : Academic press, 2014.
31. ROMERO, J.V.; CORTINA, H. Tablas de vida de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en tres accesiones de café. *Revista colombiana de entomología* 33(1):10-16. 2007.
32. RUIZ C., R.; BAKER, P. Life table of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) in relation to coffee berry phenology under colombian field conditions. *Scientia agricola* 67(6):658-668. 2010.
33. SAS Institute. SAS/STAT® 9.4 user's guide. North Carolina : SAS Institute, 2014.

DETECCIÓN DE *Rosellinia pepo* y *Rosellinia bunodes* ASOCIADAS A LLAGAS RADICALES, MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL (qPCR)

Ángela Judith Carreño Pérez*, Bertha Lucía Castro Caicedo*, Narmer Fernando Galeano Vanegas**, Álvaro León Gaitán Bustamante***

CARREÑO P., A.J.; CASTRO C., B.L.; GALEANO V., N.F.; GAITÁN B., A.L. Detección de *Rosellinia pepo* y *Rosellinia bunodes* asociadas a llagas radicales, mediante pcr en tiempo real (qPCR). Revista Cenicafé 69(1):40-54. 2018

La llaga radical causada por el hongo del suelo *Rosellinia* spp. es una enfermedad terminal en café (*Coffea* spp.), debido a que las plantas no se recuperan luego de la infección y el área de los focos no tratados aumenta con el tiempo. Se recomienda un manejo integrado para enfrentar los problemas causados por estos patógenos en las zonas cafeteras colombianas, dada la dificultad de controlar los brotes que aparecen en los lotes. El propósito de este estudio fue desarrollar métodos específicos y sensibles, basados en PCR, para detectar niveles de inóculo remanentes, con el propósito de verificar la idoneidad del suelo para nuevas plantaciones o de comprobar la recuperación de sitios previamente afectados con el fin de replantar. Pares de iniciadores para PCR cuantitativo (qPCR) se diseñaron con base en secuencias obtenidas *a priori*, de marcadores AFLP polimórficos. Se validaron por PCR convencional y PCR en tiempo real, cuatro combinaciones de iniciadores que permitieron la discriminación individual y simultánea entre las especies *R. pepo* y *R. bunodes*. Éste es el primer reporte de un diagnóstico con herramienta de PCR para identificar especies de *Rosellinia* asociadas a café en Colombia, y es el paso inicial para el desarrollo de herramientas de diagnóstico de inóculo en suelo en el manejo de la enfermedad.

Palabras clave: Café, diagnóstico de enfermedades, inóculo.

DETECTION OF *Rosellinia pepo* and *Rosellinia bunodes* ASSOCIATED WITH ROOT ROTS BY REAL TIME PCR (qPCR)

Root rot caused by the soil-borne fungus *Rosellinia* spp. is a terminal disease in coffee (*Coffea* spp.) because plants do not recover from the infection and the area of untreated foci grows with time. Due to the difficulty of controlling the outbreaks that occur in plantation lots, an integrated management to face the problems caused by these pathogens in the Colombian coffee zones is recommended. This study aimed to develop specific and sensitive PCR-based methods to detect remaining inoculum levels in order to verify soil suitability for new plantations or to check the recovery of previously affected sites for replanting purposes. Primer pairs for quantitative PCR (qPCR) were designed based on sequences obtained *a priori* from polymorphic AFLP markers. Four combinations of primers that allowed the individual and simultaneous discrimination between the *R. pepo* and *R. bunodes* species were validated by conventional PCR and real-time PCR. This is the first report of a diagnosis with PCR tool to identify species of *Rosellinia* associated with coffee in Colombia and it is the initial step for the development of soil inoculum diagnostic tools for the management of the disease.

Keywords: Coffee, diseases diagnosis, inoculum.

*Investigador Científico I (hasta diciembre de 2011 y febrero de 2014, respectivamente). Disciplina de Fitopatología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

**Asistente de Investigación (hasta diciembre de 2012). Disciplina de Fitopatología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia

***Director. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

El género *Rosellinia* incluye muchas especies, entre las cuales pocas son de reconocida importancia por su efecto patogénico en hospedantes comerciales. A pesar de que estas especies causan grandes pérdidas debido a su agresividad y al amplio rango de plantas que atacan, las investigaciones sobre este patógeno son limitadas en el ámbito científico internacional (23).

Entre las enfermedades del café que a nivel mundial ocasionan la muerte de plantas se encuentran las denominadas llagas radicales, ocasionadas por especies del género *Rosellinia*, una de las enfermedades más destructivas tanto en plantas de ciclo corto como perennes (4, 7, 19, 23). Su daño principal ocurre en las raíces, consumiendo progresivamente los tejidos y ocasionando la muerte de las plantas en cualquier estado de desarrollo. Los síntomas externos de marchitamiento y muerte de las plantas son evidentes cuando el patógeno ha invadido completamente las plantas y en las raíces se observan los signos del patógeno, caracterizados por puntos y estrías negras correspondientes a masas de micelio cuando hay ataque de *R. bunodes* o micelio en forma de estrellas en el caso de *R. pepo* (4, 10, 16).

El incremento de ataques de llagas radicales, tanto en café como en cultivos asociados a éste, ha motivado la búsqueda de nuevas medidas preventivas para el manejo de focos de infección que eviten la muerte de plantas de tardío rendimiento como lo es el café. Sin embargo, por tratarse de un patógeno del suelo, su manejo y control es difícil en la mayoría de los casos, recurriendo al manejo integrado mediante la eliminación rigurosa de residuos de raíces, exposición de los focos a los rayos solares y aplicación de productos químicos y microorganismos antagonistas (8, 14). La erradicación y limpieza de sitios infectados, que es la

práctica más importante del manejo, es en muchos casos de difícil realización en cultivos perennes. Por tal motivo, se hace necesario contar con estrategias efectivas de monitoreo y diagnóstico que se basen en análisis microbiológicos de suelo, y que mejoren los métodos convencionales que, no siempre son fáciles, económicos, de rápido resultado o de amplia cobertura.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) proporciona una alternativa confiable para la identificación y detección de hongos patógenos (21). En comparación con la PCR convencional, la PCR cuantitativa (qPCR) ofrece mayor especificidad y sensibilidad, rapidez para proporcionar datos fiables y puede detectar múltiples organismos simultáneamente (6, 12). Agentes intercalantes como el SYBRgreen® y sondas fluorogénicas como TaqMan®, Molecular Beacons y Scorpion™, son los principales tipos de moléculas usadas para detectar amplificación por qPCR (17). A diferencia de las sondas fluorogénicas, el SYBRgreen® tiene la ventaja que no requiere el diseño de fragmentos específicos complementarios al DNA blanco, por lo cual puede ser utilizado para la visualización directa de cualquier producto de PCR en tiempo real. La tasa de emisión de fluorescencia de este colorante aumenta notablemente cuando se une al DNA de doble hélice (dsDNA). El incremento de la cantidad de DNA sintetizado en cada ciclo se refleja en un incremento proporcional de la fluorescencia emitida (5, 11, 17).

La qPCR está siendo utilizada para la identificación, detección y cuantificación de microorganismos fitopatógenos como bacterias (20, 26) y hongos en el suelo (2, 5, 11, 12, 21, 22). Específicamente en *Rosellinia*, el método de Real-Time Scorpion-PCR ha sido empleado para la detección y cuantificación de *R. necatrix*, en suelo y raíces de aguacate (9, 18, 21, 22, 25).

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un método de diagnóstico basado en PCR de tiempo real para la identificación y detección de *R. bunodes* (*Rb*) y *R. pepo* (*Rp*) tanto en café como en plantas asociadas a este cultivo. Este es el primer reporte de un ensayo de qPCR para la identificación y detección específica de las especies de *Rosellinia* asociadas a café.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Para el presente estudio se trabajó con una colección de DNA de 30 aislamientos, obtenidos de raíces de café y cultivos asociados con síntomas y signos de llagas radicales, previamente caracterizados e identificados como *R. pepo* y *R. bunodes* (Tabla 1), incluyendo como control negativo de amplificación y especificidad de los iniciadores ADN extraído de un aislamiento de *Xylaria* sp.

Diseño de marcadores SCAR para qPCR

El diseño de marcadores creados a partir de Regiones de Secuencias Caracterizadas Amplificadas (SCAR, en inglés) para la caracterización de *Rosellinia* spp., se realizó mediante la conversión de marcadores de Fragmentos Amplificados Polimórficos en Longitud (AFLP). A partir de fragmentos de DNA generados mediante las combinaciones EcoRI/MseI (E-AA/M-A, E-AC/M-CTA y E-TC/M-CTC), se seleccionaron marcadores AFLP de diferentes tamaños (entre 200-500 pares de bases) por grupos interespecíficos. Las bandas que fueron comunes en aislamientos pertenecientes a una misma especie y que estuvieran ausentes en la otra especie, fueron eluidas del gel con la ayuda de una punta de micropipeta y se colectaron en tubos eppendorf con 50 μ L de Acetato de

Na 0,1M pH 6,0. Se seleccionaron cuatro bandas comunes en diferentes aislamientos, por cada marcador polimórfico.

Las bandas eluidas fueron maceradas con la ayuda de un pistilo y se sometieron a un proceso de purificación, previo a la reamplificación por PCR. El procedimiento consistió en una desnaturalización a 95°C x 5 min, seguido de un congelamiento a -80°C x 5 min, descongelamiento a temperatura ambiente y centrifugación a 13.000 rpm x 5 min. El sobrenadante fue extraído a un tubo nuevo y se adicionaron dos volúmenes de etanol frío al 100%, mezclados por inversión y almacenados a -20°C toda la noche. Las muestras se centrifugaron a 13.000 rpm x 10 min, se desechó la fase acuosa y el *pellet* de DNA resultante se lavó dos veces con etanol frío al 70%. Se secó durante 1 h en el Eppendorf Vacufuge® Concentrator y se resuspendió en 20 μ L de búfer AE. El DNA se amplificó por PCR inmediatamente o se almacenó a -20°C.

Las re-amplificaciones fueron realizadas en un volumen final de 20 μ L, conteniendo 5 μ L del DNA eluido del gel y purificado, 1X de búfer PCR, 2 mM de MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,3 ng del iniciador selectivo EcoRI, 1,5 ng del iniciador selectivo MseI y 0,5u de *Taq DNA polimerasa* (Fermentas). El programa de amplificación comprendió un ciclo inicial de denaturación a 94°C x 3 min, seguido por 35 ciclos de denaturación a 94°C x 30 s, hibridación de iniciadores a 46°C x 45 s y extensión a 72°C x 1 min; con un ciclo final de 72°C x 10 min. Los productos de PCR se evaluaron en geles de agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados con luz ultravioleta. Se clonaron los productos de reamplificación que presentaron el tamaño esperado.

Tabla 1. Información de los aislamientos de *Rosellinia* spp. y *Xylaria* sp. utilizados para las pruebas de caracterización molecular.

Aislamiento	Identificación molecular	Hospedante	Localización	Identificación genbank
RMACC 57	<i>Xylaria</i> sp.	<i>Macadamia integrifolia</i> Maiden & Betche	Chinchiná (Caldas)	-
RMACQ 46	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Macadamia integrifolia</i> Maiden & Betche	Buenavista (Quindío)	JF263560
RGUC 28	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Psidium guajava</i> L.	Chinchiná (Caldas)	JF263549
RGUC 45	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Psidium guajava</i> L.	Chinchiná (Caldas)	JF263548
RGUC 46	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Psidium guajava</i> L.	Chinchiná (Caldas)	JF263547
RCACC 35	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Theobroma cacao</i> L.	Palestina (Caldas)	-
RCACC 36	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Theobroma cacao</i> L.	Palestina (Caldas)	JF263559
RCACC 65	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Theobroma cacao</i> L.	Palestina (Caldas)	JF263545
RCACC 66	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Theobroma cacao</i> L.	Palestina (Caldas)	JF263558
RCACC 67	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Theobroma cacao</i> L.	Palestina (Caldas)	JF263557
RCR 14	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Pereira (Risaralda)	JF263562
RCCR 14.2	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Pereira (Risaralda)	JF263550
RCR 24	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Pereira (Risaralda)	JF263561
RCC 60	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Chinchiná (Caldas)	JF263554
RCC 64	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Palestina (Caldas)	JF263553
RCC 64.2	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Palestina (Caldas)	JF263552
RCC 67	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Circasia (Quindío)	JF263540
RCAUR 17	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Hevea brasiliensis</i> Müll. Arg.	Pereira (Risaralda)	JF263556
RCAUR 18	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Hevea brasiliensis</i> Müll. Arg.	Pereira (Risaralda)	JF263555
RMACC 45	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Macadamia integrifolia</i> Maiden & Betche	Chinchiná (Caldas)	JF263546
RGUAMQ 1	<i>Rosellinia pepo</i>	<i>Inga edulis</i> (Vell) Mart	Circasia (Quindío)	-
RCQ 48	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Circasia (Quindío)	JF263544
RCQ 48.2	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Circasia (Quindío)	JF263537
RCQ 51	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Quimbaya (Quindío)	-
RCQ 60	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Quimbaya (Quindío)	JF263543
RCQ 65	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Circasia (Quindío)	JF263542
RCQ 67	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Chinchiná (Caldas)	JF263551
RCQ 67.2	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Circasia (Quindío)	JF263539
RCQ 68	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Circasia (Quindío)	JF263538
RCQ 68.2	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Quimbaya (Quindío)	-
RCQ 66	<i>Rosellinia bunodes</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	Circasia (Quindío)	JF263541

El procedimiento de clonación se realizó en medio de cultivo LB, en estado líquido y sólido. Se tomaron 2 µL de cada mezcla por marcador y se ligaron en el vector pGEM®-T Easy Vector System I (Promega). La transformación se realizó empleando células competentes One Shot® Mach1™-T1^R de *Escherichia coli* (Invitrogen), que fueron cultivadas en medio LB agar con ampicilina durante 16 h. Posteriormente, por cada fragmento clonado se repicaron diez colonias blancas, las cuales fueron cultivadas en medio LB agar con ampicilina. Simultáneamente, se realizó una PCR de colonia para confirmar la presencia del fragmento de interés, utilizando los iniciadores universales SP6 y T7. Las reacciones de amplificación contenían 1X de búfer PCR, 2,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,4 µM de cada iniciador y 0,5 u de *Taq DNA polimerasa* (Fermentas). El programa de amplificación consistió de una denaturación inicial a 94°C x 3 min, seguida de un ciclo a 94°C x 30 s, 57°C x 30 s y 72°C x 2 min; 35 ciclos a 94°C x 30 s, 52°C x 30 s, 72°C x 2 min, y un ciclo de extensión final a 72°C x 10 min.

Los productos de PCR de cada colonia se visualizaron en geles de agarosa al 1,5%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados con luz ultravioleta. El DNA plasmídico de las colonias seleccionadas se purificó utilizando el Kit QIAprep Miniprep (Qiagen), siguiendo las instrucciones del fabricante. Finalmente, los plásmidos purificados se enviaron a Macrogen (Korea) para su secuenciación en ambas direcciones, usando los iniciadores universales T7/SP6. Las secuencias resultantes para cada marcador fueron evaluadas por parámetros de calidad (valor mínimo de Phred igual a 30) y por tamaño esperado.

Las secuencias consenso de DNA de las bandas AFLP cortadas se usaron para el diseño de iniciadores SCAR, empleando los programas Batchprimer3¹ y Primer3 Plus². Los iniciadores diseñados fueron sometidos a un análisis empleando el programa Amplify 3³.

PCR convencional

Con el fin de determinar la capacidad de los marcadores SCAR para diferenciar cada una de las especies de *Rosellinia*, se evaluaron 22 combinaciones de iniciadores mediante amplificaciones PCR. Las reacciones de amplificación se realizaron en un volumen final de 20 µL, los cuales contenían: 20 ng de ADN, 1X de búfer PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,5 µM de cada iniciador y 0,5 u de *Taq DNA polimerasa* (Fermentas). La amplificación consistió de un ciclo inicial a 94°C x 4 min, seguido de 35 ciclos a 94°C x 45 s, 55°C x 30 s, 72°C x 60 s, y un ciclo final a 72°C x 10 min. El tamaño de los amplicones se evaluó por electroforesis, en geles de agarosa al 1,5%. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron con luz ultravioleta. Las combinaciones de iniciadores SCAR que mostraron amplificaciones específicas se seleccionaron para realizar la genotipificación de *Rosellinia* spp. mediante qPCR.

Real-Time PCR (qPCR)

Para realizar las pruebas de estandarización mediante qPCR se utilizó DNA de cinco asilamientos de la población de estudio de *Rosellinia* spp. (dos de *R. pepo*, dos de *R. bunodes* y uno de *Xylaria* sp., como control negativo de amplificación). Se evaluaron 12 combinaciones de iniciadores, previamente

¹ <http://probes.pw.usda.gov/cgi-bin/batchprimer3/batchprimer3.cgi>

² <http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>

³ <http://engels.genetics.wisc.edu/amplify/>

seleccionados por PCR convencional, con el fin de seleccionar marcadores SCAR que permitieran discriminar entre especies de *Rosellinia* spp. asociadas a café. Los marcadores SCAR más eficientes se evaluaron con DNA de 29 aislamientos de *Rosellinia* spp., 19 aislamientos de *R. pepo* y diez de *R. bunodes*, para determinar la eficiencia de discriminación de cada marcador.

El fluorocromo usado en las pruebas fue el QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix (Qiagen). Las reacciones se realizaron en un volumen de 20 μ L, el cual contenía 20 ng de ADN, 1X qPCR master mix y 1 μ M de cada iniciador. La amplificación se realizó en un termociclador BIORAD C1000™ Thermal Cycler con un módulo de cabezote CFX96 Real-time System. El programa de amplificación consistió en una denaturación inicial a 95°C x 10 min, seguida de 39 ciclos con denaturación a 94°C x 30 s, anillamiento a 60°C x 30 s y extensión a 72°C x 30 s; al finalizar la extensión, en cada ciclo se realizó una lectura de fluorescencia del SYBR Green. La curva de Melting se efectuó con un rango de temperatura desde 55°C hasta 95°C, realizando lecturas cada 0,2°C y manteniendo la lectura 1s.

Las reacciones se corrieron en duplicado o triplicado. El análisis de las muestras se realizó con base en la curva de Melting y los valores Ct. Para verificar la contaminación cruzada, se incluyeron controles de agua ultrapura en todos los montajes de las reacciones de qPCR. Los materiales empleados se descontaminaron con el producto “DNA Away” (Molecular BioProducts), y se emplearon puntas con filtro para minimizar la contaminación.

Detección de *Rosellinia* spp. en suelo infestado artificialmente

El inóculo de *R. pepo* y *R. bunodes* se preparó según la metodología reportada por Paulitz y

Schroeder (15), con algunas modificaciones. Se adicionaron 250 g de arroz parbolizado y 250 mL de agua, en bolsas selladas y el material se dispuso en autoclave dos veces por 90 min, en dos días consecutivos. Las bolsas se sembraron con cuatro discos de un cultivo de *Rosellinia* spp. de dos semanas, crecido en medio AEM (Agar Extracto de Malta). Las bolsas fueron homogeneizadas una vez por semana e incubadas a temperatura ambiente, por cuatro semanas. Los granos colonizados se emplearon como inóculo de *Rosellinia* spp.

Para realizar las pruebas de detección del patógeno en suelo, el inóculo se mezcló con suelo seco en diferentes cantidades de granos de arroz colonizado por gramo de suelo (0,025 g, 0,050 g, 0,100 g, 0,200 g, 0,300 g, 0,400 g, 0,600 g). La mezcla se homogeneizó y empleó para la extracción de DNA inmediatamente. Para cada muestra, la extracción de DNA se realizó en triplicado usando el *Ultra Clean Soil DNA extraction Kit* (MoBio Laboratorios), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Un microlitro del DNA extraído fue usado para evaluar la especificidad de los iniciadores en la detección e identificación del patógeno en el suelo, mediante la amplificación por qPCR. Las reacciones incluyeron testigos con DNA de suelo sin infestar y el análisis de los datos para determinar la concentración a la cual puede empezarse a detectar el patógeno se realizó como se describió anteriormente.

RESULTADOS

Diseño de marcadores SCAR para la identificación y detección de *Rosellinia* spp. asociadas a llagas radicales

A partir de 28 marcadores AFLP interespecíficos, generados con las combinaciones E-AA/M-A,

E-AC/M-CTA y E-TC/M-CTC, se diseñaron marcadores SCAR para *R. bunodes* y *R. pepo*. La denominación de los marcadores consta primero de la combinación de iniciadores a la que pertenece y después del número de la banda polimórfica en dicha combinación.

Se logró la reamplificación de 12 marcadores específicos para *R. pepo* y 15 marcadores para *R. bunodes*, de los cuales solamente 18 fueron clonados (ocho para *Rp* y diez para *Rb*). Por cada marcador clonado se seleccionaron diez colonias transformadas, a las cuales se les realizó PCR de colonia para verificar la presencia del inserto. Según el tamaño esperado para cada fragmento y teniendo en cuenta que la longitud del mismo sería superior al esperado, puesto que los sitios de unión de los iniciadores T7/SP6 se encuentran distanciados del sitio

de clonación, por marcador se seleccionaron cinco colonias que contenían el fragmento de interés, lo cual permitió obtener un total de 98 clones secuenciados (Tabla 2).

La edición de secuencias se realizó empleando el software CodonCode Aligner. Como resultado del proceso de limpieza de las 196 secuencias obtenidas, se descartaron 11 secuencias del análisis debido a que presentaron valores Phred inferiores a 30. Las 187 secuencias restantes se analizaron y ensamblaron para verificar la homología de secuencia entre clones de un mismo marcador. A partir de la formación de *contigs*, se descartaron las secuencias que formaron *singletons*, al igual que secuencias de clones que presentaron formación de dos o más *contigs* dentro de un mismo marcador. El análisis de los *contigs* formados determinó que los marcadores difieren en secuencia uno

Tabla 2. Tamaño de fragmentos amplificados y número de clones secuenciados para cada marcador AFLP.

Número	ID marcador	Longitud (pb)	No. clones secuenciados
1	AAA_1	500	5
2	AAA_3	450	6
3	ACCTA_1.1	400	5
4	ACCTA_1.2	400	7
5	ACCTA_2	350	5
6	ACCTA_3	350	5
7	ACCTA_4	350	5
8	ACCTA_5	500	5
9	ACCTA_6	450	6
10	ACCTA_7	400	5
11	ACCTA_8	350	6
12	ACCTA_9	350	5
13	TCCTC_1	500	5
14	TCCTC_5	650	5
15	TCCTC_6	650	6
16	TCCTC_7	550	6
17	TCCTC_8	400	6
18	TCCTC_9	400	5

del otro. Solamente los marcadores ACCTA 1.1 y ACCTA 3, específicos para *R. pepo*, se agruparon dentro de un mismo *contig*.

Finalmente se seleccionaron los *contigs* de seis marcadores AFLP para *R. pepo* y nueve para *R. bunodes*, para el diseño de marcadores SCAR. Las secuencias consenso se cargaron en el programa *Batchprimer3*, cambiando las opciones de tamaño de producto con un mínimo de 80, óptimo de 110 y máximo de 150, y Tm mínima de 55, óptima de 60 y máxima de 63. Los iniciadores generados, *Forward and Reverse*, se sometieron a un análisis empleando el programa *Amplify* para descartar las combinaciones de iniciadores que generaban dímeros y productos inespecíficos. Se seleccionaron 11 combinaciones de iniciadores promisorias como marcadores SCAR, cuatro diseñadas para *R. pepo* y siete para *R. bunodes*. Adicionalmente, con el programa *Primer3 Plus* se diseñaron iniciadores para qPCR, los cuales fueron igualmente evaluados para la formación de dímeros y productos inespecíficos. Este programa generó 13 combinaciones de posibles marcadores SCAR, cinco para *R. pepo* y ocho para *R. bunodes*. En total, se generaron 24 combinaciones de iniciadores, promisorias como marcadores SCAR para la genotipificación de *Rosellinia* spp. en café y cultivos asociados a éste.

Especificidad de marcadores SCAR

La PCR se optimizó evaluando diferentes temperaturas de anillamiento, 50°C, 52°C, 55°C, 57°C y 60°C. La temperatura óptima de anillamiento fue de 55°C, debido a que a temperaturas superiores o inferiores se observaron productos de amplificación inespecíficos.

La especificidad de las 24 combinaciones de marcadores SCAR se evaluó mediante PCR convencional, con DNA de *R. pepo*

y *R. bunodes*. Se confirmó la amplificación de un solo fragmento de DNA del tamaño esperado para todos los aislamientos de *Rosellinia* spp. y no se detectó amplificación para *Xylaria* sp., con 12 marcadores. Diez combinaciones amplificaron positivamente solo para *R. bunodes* y dos para *R. pepo* (Tabla 3). Las demás combinaciones evaluadas se descartaron del estudio puesto que no permitieron diferenciar entre especies ni presentaron especificidad.

Genotipificación de *R. bunodes* y *R. pepo* mediante qPCR

La estandarización de la técnica se realizó evaluando diferentes temperaturas de anillamiento desde 53°C hasta 63°C, usando un gradiente de temperatura. La temperatura óptima de anillamiento fue 60°C, reduciendo el número de combinaciones de iniciadores promisorias para la genotipificación de *Rosellinia* spp.

Se presentaron cuatro combinaciones con amplificaciones específicas, que permitieron discriminar exitosamente entre *R. pepo* y *R. bunodes*. Se genotipificaron exitosamente dos combinaciones para *R. pepo* y dos para *R. bunodes* (Tabla 4). La denominación de los iniciadores se redujo a las iniciales del programa de diseño, seguido del número del *contig* de la secuencia, consenso a partir de la cual fueron diseñados y, por último, el tamaño del producto que generan.

La especificidad de las cuatro combinaciones de marcadores SCAR óptimas para la genotipificación de *Rosellinia* spp. se evaluó usando DNA de 29 aislamientos de *Rosellinia* spp. y un aislamiento de *Xylaria* sp. Las curvas de Melting mostraron un solo pico en todos los casos, evidenciando la especificidad de la reacción y permitiendo la diferenciación entre aislamientos de *R. pepo* y *R. bunodes*.

Tabla 3. Marcadores SCAR promisorios para la genotipificación de *Rosellinia* spp. mediante PCR convencional.

No.	ID Primer	Marcador SCAR ID	Secuencia iniciadores FORWARD Y REVERSE (5' - 3')	Tamaño producto
1	BP Cont_3F TC/CTC_7		AAGCTAAAAGGCCAGGGTTC	106
	BP Cont_3R TC/CTC_7	<i>R. bunodes</i>	CTCGACTTGTGATGCAGAC	
	BP Cont_3 F2 TC/CTC_7		GTTGATATCCTAGACGTCCTCCAAAC	
	BP Cont_3 R2 TC/CTC_7		TAACTCAGTCGCATGAGAAGAATAG	
3	BP Cont_7 F2 TC/CTC_6	<i>R. bunodes</i>	AGAGTTGGAATTAGAGGCAGAGAAA	110
	BP Cont_7 R2 TC/CTC_6		CTTTATTCCTCTTTTCCGGCTTACC	
4	BP Cont_8 F AC/CTA_7	<i>R. bunodes</i>	GGGTAGCACGGAAAGATGGTA	111
	BP Cont_8 R AC/CTA_7		AGCCTCGGAGCTTCTTCTT	
5	BP Cont_14 F2 AC/CTA_5	<i>R. bunodes</i>	GGCTATGCGTAGGATATGAAATAGAA	96
	BP Cont_14 R2 AC/CTA_5		GGGTTCCGACGTGATAACTAGAATAA	
6	PP Cont_7 F2 TC/CTC_6	<i>R. bunodes</i>	GGAGCAGGACCGA AAAAATC	89
	PP Cont_7 R2 TC/CTC_6		AAATGCCGCTCTCCTCATC	
7	PP Cont_8 F AC/CTA_7	<i>R. bunodes</i>	GGGTAGCACGGAAAGATGG	86
	PP Cont_8 R AC/CTA_7		GCTTATTTACAGCGTTTCTTGG	
8	PP Cont_9 F AC/CTA_2	<i>R. pepo</i>	CCACACTAATGCAGCCAATC	104
	PP Cont_9 R AC/CTA_2		GGCTAACCGGGAAAAGTGAAG	
9	PP Cont_12 F2 TC/CTC_1	<i>R. pepo</i>	TCTCATCGCCATACTCTGG	121
	PP Cont_12 R2 TC/CTC_1		CACTTTGAICTTTGGCCTGAC	
10	PP Cont_14 F2 AC/CTA_5	<i>R. bunodes</i>	GAGAAGCGTAGTGGTCGATG	119
	PP Cont_14 R2 AC/CTA_5		GTCGAATGTGGATTTGGGTTG	
11	PP Cont_15 F TC/CTC_8	<i>R. bunodes</i>	CGAGCAACCCATGAACACC	70
	PP Cont_15 R TC/CTC_8		CACCCAACGGATAAACCCAC	
12	PP Cont_15 F2 TC/CTC_8	<i>R. bunodes</i>	CGAGCAACCCATGAACACC	81
	PP Cont_15 R2 TC/CTC_8		AAGCTGACATCCACCCCAAC	

Tabla 4. Marcadores SCAR óptimos para la genotipificación de *R. bunodes* y *R. pepo* mediante qPCR.

No.	ID Primer Scar	Marcador SCAR ID	Secuencia iniciadores FORWARD Y REVERSE (5' – 3')	T° Melting
1	PP Contig9_104 F	<i>R. pepo</i>	CCACACTAATGCAGCCAATC	76,6
	PP Contig9_104 R		GGCTAACGGGAAAGTAAAAG	
2	PP Contig12_121 F2		TTCATCGCCATACTCTTGG	78,8
	PP Contig12_121 R2		CACTTTGATCTTGGCCTGAC	
3	PP Contig15_70 F	<i>R. bunodes</i>	CGAGCAACCATGAACACC	76
	PP Contig15_70 R		CACCCAACGGATAAACACC	
4	PP Contig15_81 F2		CGAGCAACCATGAACACC	77,4
	PP Contig15_81 R2		AAGCTGACATCCACCCAAC	

Las combinaciones PP Contig9_104 y PP Contig12_121 resultaron en picos únicos para *R. pepo*, con Tm de 76,6 y 78,8°C, respectivamente (Figura 1). Ambas combinaciones arrojaron porcentajes de discriminación del 100%, lo cual evidencia la especificidad de los iniciadores en la genotipificación de la especie. Los valores Ct oscilaron entre 24 y 32 ciclos.

Las combinaciones PP Contig 15_70 y PP Contig15_81 arrojaron picos únicos

de amplificación para *R. bunodes*, con Tm de 77,4 y 76,0°C, respectivamente (Figura 2). La combinación PP Contig15_70 permitió un porcentaje de discriminación del 100%, mientras que la combinación PP Contig15_81 presentó un porcentaje de discriminación del 70%. No obstante, a pesar de que esta última combinación no permitió la amplificación de todas las muestras positivas, fue exitosa para diferenciar claramente entre especies. Los valores Ct oscilaron entre 30 y 37 ciclos.

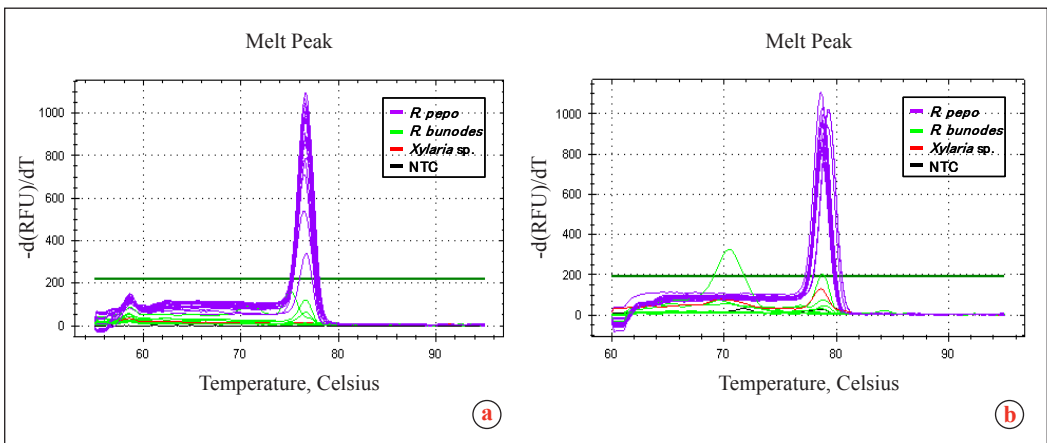


Figura 1. Genotipificación de *Rosellinia pepo* mediante qPCR: **a.** Comportamiento de la curva de Melting usando la combinación de marcadores SCAR PP Contig9_104; **b.** Comportamiento de la curva de Melting usando la combinación PP Contig12_121.

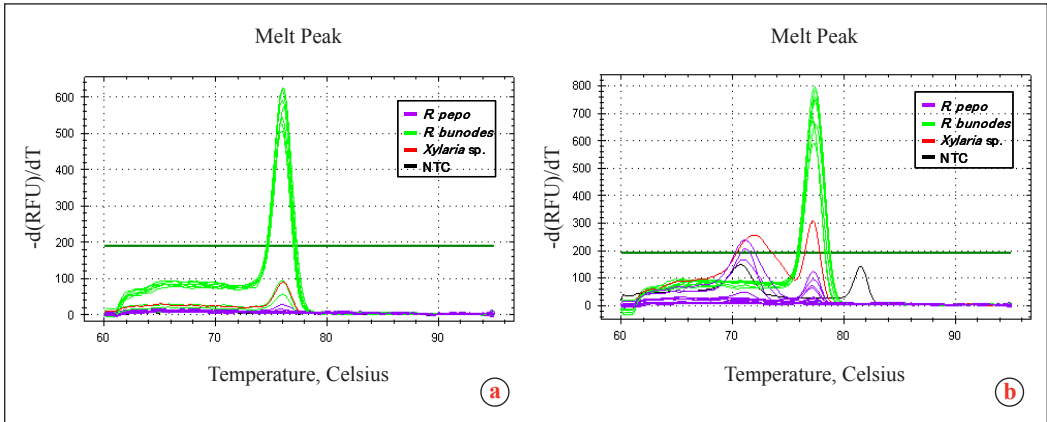


Figura 2. Genotipificación de *Rosellinia bunodes* mediante qPCR: **a.** Comportamiento de la curva de Melting usando la combinación de marcadores SCAR PP Contig15_70; **b.** Comportamiento de la curva de Melting usando la combinación PP Contig15_81.

En todos los casos, el análisis de las curvas de Melting mostró una gran diferencia entre la fluorescencia emitida por muestras positivas y la emitida por muestras negativas. No se observó amplificación del DNA de alguno de los controles negativos, con tres de las combinaciones evaluadas. La combinación PP Contig15_81 mostró un leve aumento en la fluorescencia para el aislamiento de *Xylaria* sp., pero la T_m difirió con respecto a las muestras positivas, permitiendo diferenciar claramente muestras positivas de controles negativos.

Detección de *R. bunodes* y *R. pepo* en suelo infestado artificialmente

El kit empleado para la obtención de DNA de suelo permitió la extracción de un DNA adecuado para las amplificaciones en aproximadamente 2 h. El ensayo realizado permitió detectar *R. bunodes* y *R. pepo* en suelo infestado artificialmente, mediante SCAR-qPCR. Con base en los valores Ct del experimento anterior, se probaron diferentes concentraciones de inóculo para cada especie

de *Rosellinia*. Dado que *R. bunodes* presentó detecciones más tardías, Ct entre 30 y 37, las concentraciones más bajas se probaron para esta especie y las más altas para *R. pepo*. El límite de detección fue de 100 mg.g⁻¹ de suelo.

Los marcadores evaluados, además de permitir la detección individual de *Rosellinia* spp., permitieron desarrollar un ensayo de detección simultánea. PCR Múltiple, empleando las combinaciones PP Contig 12_121 y PP Contig15_70, permitió detectar e identificar claramente las especies de *Rosellinia* inoculadas en el suelo (Figura 3). La emisión de fluorescencia estuvo relacionada con la concentración del hongo inoculada, a mayor concentración menor Ct. Los valores Ct para *R. bunodes* estuvieron entre el rango de 34 (400 mg) a 37 (100 mg), y para *R. pepo* entre 25 (600 mg) y 28 (400 mg). El DNA no fue amplificado o detectado en alguno de los controles que contenían DNA extraído de suelo infestado naturalmente, ni de los controles que contenían agua en lugar de DNA.

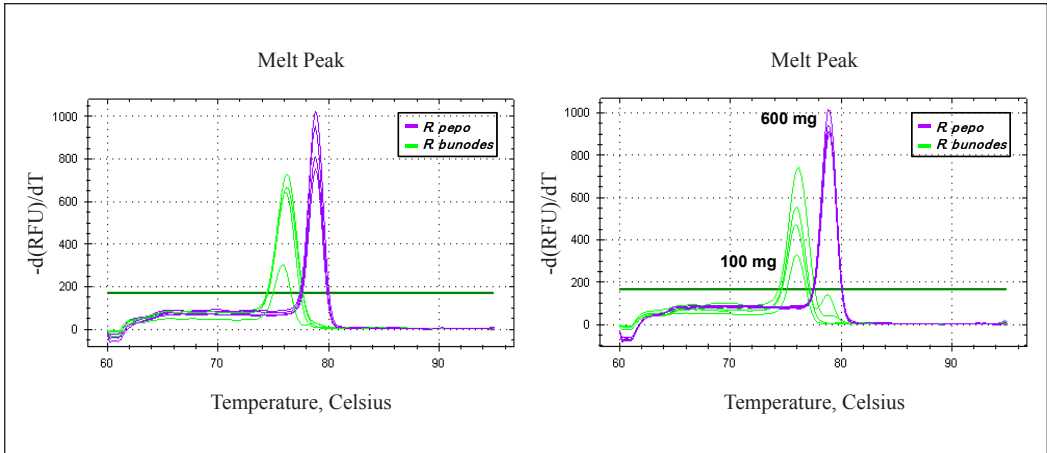


Figura 3. Detección en suelo infestado artificialmente de *R. bunodes* y *R. pepo* mediante qPCR, usando las combinaciones SCAR PP Contig 12_121 (Tm 78,8) y PP Contig15_70 (Tm 76,0).

Los resultados confirman la especificidad y utilidad de los marcadores SCAR diseñados para la genotipificación de *R. bunodes* y *R. pepo*, tanto en café como en cultivos asociados. Sin embargo, estos marcadores no permiten la detección de DNA del patógeno en suelos recolectados en lotes con presencia de la enfermedad.

DISCUSIÓN

Diversos reportes destacan el uso de marcadores SCAR como herramienta útil para la detección de patógenos (1, 3). El presente estudio reporta el uso de marcadores SCAR para la detección específica de *R. bunodes* y *R. pepo*, asociados a llagas radicales. La especificidad de dichos marcadores se evaluó en DNA de 30 aislamientos de *Rosellinia* recolectados en diferentes localidades de la región cafetera, tanto en café como en cultivos asociados a éste. El número de aislamientos evaluados estuvo limitado debido a la complejidad de la obtención del patógeno en el laboratorio, a su lento crecimiento en medio y a problemas de contaminación.

La conversión de marcadores polimórficos AFLP a marcadores SCAR, arrojó cuatro combinaciones de marcadores SCAR que permiten discriminar entre especies de *Rosellinia* mediante el uso de la técnica qPCR usando SYBR® Green. Los ensayos realizados demuestran repetidamente que los marcadores diseñados son altamente específicos para la detección de *R. bunodes* y *R. pepo*. La presencia de falsos positivos para las muestras evaluadas puede excluirse, puesto que todas las muestras positivas se recolectaron de campos en los cuales el patógeno había sido plenamente aislado e identificado y todas las muestras mostraron síntomas y signos específicos de llagas radicales.

Uno de los principales inconvenientes al trabajar con agentes intercalantes, es su baja especificidad debido a que se unen de manera indistinta a productos generados inespecíficamente o a dímeros de iniciadores, muy frecuentes en la PCR (5, 17). Sin embargo, en este estudio el uso de SYBR® Green no afectó la calidad de los resultados obtenidos. Se demostró la eficiencia de los

marcadores SCAR en la detección especie-específica y al emplear condiciones de reacción óptimas se disminuyó el riesgo de formación de dímeros.

De igual forma, la especificidad de dichos marcadores se corroboró al evaluar la temperatura de fusión de los fragmentos amplificados (T_m = temperatura a la que el 50% del DNA de la molécula está desnaturalizado). La curva de Melting de un producto es dependiente de su contenido GC, longitud y secuencia, lo cual permite su utilización en la identificación de los productos de PCR. El análisis de los picos Melting ofrece un método de diferenciación de productos completamente integrado con PCR. Similar al tamaño por electroforesis en gel, el análisis de los picos Melting puede ser usado para identificar productos amplificados (17). Dicho análisis determinó que cuatro combinaciones de marcadores SCAR arrojaron picos únicos de amplificación. Las combinaciones PP Contig9_104 y PP Contig12_121 resultaron en picos únicos para *R. pepo* (T_m de 76,6 y 78,8°C, respectivamente), y las combinaciones PP Contig 15_70 y PP Contig15_81 arrojaron picos únicos de amplificación para *R. bunodes* (T_m de 77,4 y 76,0°C, respectivamente). Sin embargo, es necesario analizar detalladamente la especificidad de los mismos, ampliando el rango y número de especies de *Rosellinia* evaluadas.

La sensibilidad de la técnica fue evaluada empleando diferentes concentraciones de inóculo por gramo de suelo. Las concentraciones de inóculo evaluadas para cada especie de *Rosellinia*, variaron según los valores Ct obtenidos en la detección del DNA del patógeno extraído de raíces con síntomas de llaga radical. Se probaron concentraciones altas en *R. pepo* (200, 300, 400 y 600 mg por gramo de suelo) y bajas en *R. bunodes* (25, 50, 100, 200 y 400 mg.g⁻¹ de suelo),

puesto que su detección fue más tardía (Ct promedio 34). Sin embargo, puede concluirse que el límite de detección de la técnica desarrollada en este estudio es de 100 mg de hongo por gramo de suelo. Es importante resaltar que tanto *R. bunodes* como *R. pepo* solo pudieron ser detectadas en suelos infestados artificialmente, pero no en suelos naturales, recolectados en lotes con presencia de la enfermedad.

A pesar de que el método evaluado permitió detectar *R. bunodes* y *R. pepo* en suelos inoculados artificialmente, es posible que la incapacidad de detección en suelos naturales esté ligada a la calidad del DNA extraído. Diversos factores pueden afectar la detección de un microorganismo en suelo usando qPCR. Entre los factores más importantes se resalta la capacidad de unión del DNA a la superficie de las partículas del suelo, lo cual puede influir en la eficiencia de la extracción de DNA (11, 13). Adicionalmente, el efecto de la co-extracción de inhibidores de PCR también es importante en la eficiencia de la amplificación al trabajar con muestras de suelo. La presencia de sustancias húmicas, las cuales son fuertes inhibidores de PCR, posiblemente por que interactúan con la DNA polimerasa o interfieren en la unión de los iniciadores al DNA molde, puede reducir considerablemente el límite de detección (11, 24). En el caso de detección de *R. necatrix* se reporta el uso de iniciadores convencionales y *Scorpion* para la detección en suelo mediante *Scorpion*-PCR anidada (21, 22). Se requieren esfuerzos para el desarrollo de un método de detección cuantitativo con el fin de facilitar estudios para determinar el nivel de inóculo de *Rosellinia* spp. necesario para el desarrollo de la enfermedad.

La meta final de este estudio es ofrecer un análisis rápido, específico y sensible de detección y cuantificación en suelo de

R. bunodes y *R. pepo*. Las herramientas moleculares desarrolladas en este estudio constituyen un importante avance en el conocimiento de la biología del patógeno, su interacción con el hospedante y otros patógenos de café, y su supervivencia en suelo. Este es el primer paso para el desarrollo de un método de diagnóstico del patógeno en raíces y suelo, cuya utilidad en forma temprana, así como en la evaluación de la respuesta de germoplasma de café, que eventualmente pueda mostrar tolerancia o resistencia a dicho patógeno.

LITERATURA CITADA

1. AHONSI, M.O.; LING, Y.; KAGEYAMA, K. Development of SCAR markers and PCR assays for single or simultaneous species-specific detection of *Phytophthora nicotianae* and *Pythium helicoides* in ebb-and-flow irrigated kalanchoe. *Journal of microbiological methods* 83:260-265. 2010.
2. BRIERLEY, J.L.; STEWART, J.A.; LEES, A.K. Quantifying potato pathogen DNA in soil. *Applied soil ecology* 41:234-238. 2009.
3. CORDIER, C.; EDEL H., V.; MARTIN L., F.; BLAL, B.; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. SCAR-based real time PCR to identify a biocontrol strain (T1) of *Trichoderma atroviride* and study its population dynamics in soils. *Journal of microbiological methods* 68(1):60-68. 2007.
4. FERNÁNDEZ, B.O.; LÓPEZ, D.S. Las llagas radicales Negra (*Rosellinia bunodes*) y Estrellada (*Rosellinia pepo*) del café: Patogenicidad e influencia de la clase de inóculo en la infección *Cenicafé* 15(3):126-144. 1964.
5. FILION, M.; ST A., M.; JABAHI H., S.H. Direct quantification of fungal DNA from soil substrate using real-time PCR. *Journal of microbiological methods* 53(1):67-76. 2003.
6. GACHON, C.; MINGAM, A.; CHARRIER, B. Real-time PCR: What relevance to plant studies?. *Journal of experimental botany* 55(402):1445-1454. 2004.
7. GOVINDARAJAN, T.S. A review on the incidence of root diseases on coffee and their management. *Journal of coffee research* 18(1):16-28. 1988.
8. GUTIÉRREZ G., R.A.; CASTRO C., B.L.; RIVILLAS O., C.A. Manejo de focos de llagas radicales en cafetales. *Chinchiná: Cenicafé*, 2004. 8 p. (Avances Técnicos No. 327)
9. HUANG, J.; WU, J.; LI, C.; XIAO, C.; WANG, G. Detection of *Phytophthora nicotianae* in soil with real-time quantitative PCR. *Journal of phytopathology* 158:15-21. 2010.
10. IBARRA, N.L., CASTRO C., B.L., PONCE, C.A. Estudio del proceso infectivo de *Rosellinia bunodes* Berk y Br. Sacc. en café. *Fitopatología colombiana* 23(1/2):59-64. 1999.
11. LI, M.; SENDA, M.; KOMATSU, T.; SUGA, H.; KAGEYAMA, K. Development of real-time PCR technique for the estimation of population density of *Pythium intermedium* in forest soils. *Microbiological research* 165(8):695-705. 2010.
12. MALVICK, D.K.; IMPULLITTI, A.E. Detection and quantification of *Phialiphora gregata* in soybean and soil samples with a quantitative, real-time PCR assay. *Plant disease* 91(6):736-742. 2007.
13. MARTIN L., F.; PHILIPPOT, L.; HALLET, S.; CHAUSSOD, R.; GERMON, J.C.; SOULAS, G.; CATROUX G. DNA extraction from soils: Old bias for new microbial diversity analysis methods. *Applied and environmental microbiology* 67(5):2354-2359. 2001.
14. MERCHÁN, V.M. La *Rosellinia* del cacao. *Revista agronomía* 2(1):27-29. 1988.
15. PAULITZ, T.C.; SCHROEDER, K.L. A new method for the quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* from soil. *Plant disease* 89(7):767-772. 2005.
16. REALPE O., C.E.; VILLEGAS G., C.; RIAÑO H., N.M. Aislamiento y caracterización morfológica de *Rosellinia pepo* pat. en plantas de macadamia. *Facultad nacional de agronomía Medellín* 59(2):3509- 3526. 2006.
17. RIRIE, K.M.; RASMUSSEN, R.P.; WITWER, C.T. Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Analytical biochemistry* 245(2):154-160. 1997.
18. RUANO, R.; SCHENA, L.; IPPOLITO, A.; LÓPEZ, H.J. Comparison of conventional and molecular methods for the detection of *Rosellinia necatrix* in avocado orchards in south Spain. *Plant pathology* 56(2):251-256. 2007.

19. SACCAS, A.M. Les *Rosellinia* des caféiers en Oubangui-Chari. L'agronomie tropicale 11(5):551-595. 1956.
20. SCHAAD, N.W.; BERTHIER S., Y.; SECHLER, A.; KNORR, D. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato tubers by BIO-PCR and an automated real time fluorescence detection system. Plant disease 83(12):1095-1100. 1999.
21. SCHENA, L.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A. Identification and detection of *Rosellinia necatrix* by conventional and real-time Scorpion-PCR. European journal of plant pathology 108(4):355-366. 2002.
22. SCHENA, L.; IPPOLITO, A. Rapid and sensitive detection of *Rosellinia necatrix* in roots and soil by real time Scorpion-PCR. Journal of plant pathology 85(1):15-25. 2003.
23. TEN H., G.M.; KRAUSS, U. Biology and control of *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia necatrix* and *Rosellinia pepo*. Crop protection 25(2):89-107. 2006.
24. TSAI, Y.L.; OLSON, B.H. Detection of low numbers of bacterial cells in soils and sediments by polymerase chain reaction. Applied and environmental microbiology 58(2):754-757. 1992.
25. GENT P., M.P.E. VAN; KRIJGER, M.; BONANTS, P.J.M. Improved real-time PCR assay for detection of the quarantine potato pathogen, *Synchytrium endobioticum*, in zonal centrifuge extracts from soil and in plant. European journal of plant pathology 126:129-133. 2010.
26. WELLER, S.A.; ELPHINSTONE, J.G.; SMITH, N.C.; BOONHAM, N.; STEAD, D.E. Detection of *Ralstonia solanacearum* strains with a quantitative, multiplex, real-time, fluorogenic PCR (TaqMan) assay. Applied and environmental microbiology 66(7):2853-2858. 2000.

DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Metarhizium* spp. DE LA ZONA CAFETERA COLOMBIANA

Adriana Gisela Rosillo Guerrero*, Patricia Marín Marín**, Narmer Fernando Galeano Vanegas***, Alvaro León Gaitán Bustamante****

ROSILLO G., A. G.; MARÍN M., P.; GALEANO V., N. M.; GAITÁN B., A. L. Diversidad genética de *Metarhizium* spp. de la zona cafetera colombiana. Revista Cenicafé 69(1):55-67. 2018

La estimación de la diversidad es un factor determinante para conservar y aprovechar los recursos genéticos presentes en el medio ambiente. Con el fin de contribuir al conocimiento de la diversidad genética de los hongos controladores biológicos de insectos de la zona central cafetera colombiana, mediante técnicas moleculares se estudiaron las poblaciones del hongo *Metarhizium* spp. La evaluación de la diversidad genética se realizó mediante la secuenciación de las regiones espaciadoras transcritas de los genes ribosomales (ITS) y de los exones de la región 3' del gen de la beta-tubulina, y por medio de la amplificación de fragmentos polimórficos en sus sitios de restricción (AFLPs). Se evaluaron 33 aislamientos recolectados en la zona cafetera. Las diferencias entre los organismos se analizaron mediante la construcción de matrices de similitud a partir de 203 marcadores AFLPs, utilizando el índice de Jaccard. Los aislamientos se agruparon mediante el algoritmo UPGMA y el análisis de coordenadas principales PCORDA. Las secuencias de regiones ITS y beta-tubulina de aislamientos representativos de los grupos obtenidos, se compararon con secuencias existentes en GenBank y se analizaron mediante alineamiento múltiple usando CLUSTAL. Se ratificó la existencia de tres grupos intra-específicos para *Metarhizium anisopliae*, que no tienen relación con origen geográfico, tipo de cultivo, ni hospedero. El análisis de DNA ribosomal ubica a todos los aislamientos obtenidos dentro de la subespecie *M. anisopliae anisopliae*, con estado perfecto en Ascomycetes Clavicipetales. *Metarhizium* presentó dos genes de beta-tubulina, que pueden corresponder a dos alelos o a una familia, pero con significancia taxonómica.

Palabras clave: Enemigos naturales, bioprospección, café, hongos.

GENETIC DIVERSITY OF *Metarhizium* spp. OF THE COLOMBIAN COFFEE ZONE

Diversity assessment is a key factor to preserve and exploit the genetic resources of the environment. In order to contribute to the knowledge on genetic diversity of fungi for the biological control of insect pests of the Colombian coffee central zone, the populations of the *Metarhizium* spp. fungus were studied by means of molecular techniques. The assessment of genetic diversity was made by sequencing the transcribed spacer regions of the ribosomal genes (ITS) and the exons of region 3 of the beta-tubulin gene, and by amplifying polymorphic fragments in their restriction sites (AFLPs). Thirty-three isolates collected in the coffee zone were evaluated. Differences between organisms were analyzed by constructing similarity matrices from 203 AFLP markers, using the Jaccard index. The isolates were grouped by the UPGMA algorithm and the PCORDA main coordinate analysis. The sequences of ITSs and beta-tubulin regions of isolates representative of the groups obtained were compared with existing sequences in the GenBank and analyzed by multiple alignment using CLUSTAL. The existence of three intra-specific groups for *Metarhizium anisopliae*, that have no relation with geographical origin, type of crop, or host was confirmed. The analysis of ribosomal DNA locates all the isolations obtained within the subspecies *M. anisopliae anisopliae*, with perfect condition in Clavicipetal Ascomycetes. *Metarhizium* had two beta-tubulin genes, which may correspond to two alleles or one family, but with taxonomic significance.

Keywords: Natural enemies, bioprospecting, coffee, fungi.

*Servicios Profesionales (hasta abril de 2004). Disciplina de Fitopatología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

**Servicios Profesionales (hasta septiembre de 2009). Disciplina de Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

***Asistente de Investigación (hasta diciembre de 2012). Disciplina de Fitopatología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

****Director, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

La riqueza de biodiversidad en poblaciones de hongos, generalmente se refiere al número de géneros y especies que pueden encontrarse en un ambiente determinado; sin embargo, una buena parte de esta riqueza se encuentra escondida dentro de las especies, en las poblaciones (7). Hasta el momento, esta biodiversidad solamente se apreciaba mediante observaciones de invernadero o laboratorio que involucraban pruebas de patogenicidad, reacciones bioquímicas o delicadas apreciaciones microscópicas. Desafortunadamente, estas características fenotípicas se hallan influenciadas por el medio ambiente, además de ser escasas. Por ejemplo, las características de producción de conidias son inestables, ya que dependen de diferentes condiciones de cultivo o aparecen sólo después de varios subcultivos, por lo cual no es un sistema confiable de clasificación taxonómica (9). Por estas razones, la dependencia en las características morfológicas puede llevar a conclusiones erróneas en cuanto a la variabilidad genética de una población.

La estimación de la diversidad es una condición importante para conservar y aprovechar los recursos genéticos presentes en el medio ambiente. Como primera medida, permite la separación de genotipos morfológicamente similares, proveyendo al mismo tiempo un método de identificación de cepas o de detección y rastreo de genotipos particulares en el medio ambiente. De otro lado, la diferenciación de aislamientos dentro de una misma especie ofrece la posibilidad de maximizar el número de candidatos diferentes para ser evaluados en pruebas de control biológico, o de determinar el tamaño representativo de la muestra a recolectar en estudios de campo. Finalmente, la estimación de la variabilidad de una población permite deducir comportamientos reproductivos importantes en la dinámica del organismo en

el campo, importante para trabajos de flujo genético en poblaciones locales, cuando se liberan cepas foráneas (2).

Como alternativa al uso de características fenotípicas, las técnicas moleculares se han presentado como una herramienta valiosa para varias disciplinas, entre ellas, la sistemática. El desarrollo de marcadores moleculares permite estudiar las poblaciones sin influencia del medio ambiente, de forma muy amplia, debido a la gran cantidad de información presente en el DNA, y de una manera muy repetible y objetiva. Dentro de las aplicaciones de los métodos moleculares en la sistemática están la determinación de relaciones entre los grupos de hongos y la aclaración de conceptos sobre las distintas especies. En este último caso, la aplicación de las técnicas de marcadores moleculares ha permitido definir patrones filogenéticos que no concuerdan con las morfologías observadas, así como encontrar nuevas relaciones entre organismos aparentemente distantes (7).

Este trabajo propone hacer una exploración de esa diversidad intraespecífica del controlador biológico *Metarhizium* spp., proveniente de muestreos de campo en la zona cafetera central de Colombia, con el fin de potenciar su aprovechamiento comercial de una manera ecológicamente razonable y proveer herramientas en la protección de la propiedad intelectual de estos organismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de hongos de suelo. Se utilizaron trampas con larvas de *Galleria mellonella* para recuperar los hongos entomopatógenos, así: se escogieron cinco árboles o sitios de cada uno de dos transectos delimitados en cada lote. Con la ayuda de una pala de jardinería se removió el suelo en el plato de cada árbol o sitio seleccionado

a 12 cm de profundidad y se tomó una muestra de 500 g de suelo, que se depositó en bolsas de plástico negro. Cada muestra de suelo se desmoronó manualmente y se introdujo en un recipiente plástico que contenía diez larvas de último instar de *G. mellonella*. Los recipientes permanecieron a temperatura ambiente durante diez días, luego de los cuales se retiró el suelo de los recipientes para facilitar la búsqueda de las larvas. Aquellas larvas que se recuperaron se clasificaron como vivas, muertas por infección con un entomopatógeno y otros. Las larvas muertas se depositaron en una cámara húmeda para permitir el desarrollo de la infección de los hongos y facilitar la identificación del patógeno. A partir de las larvas que presentaron signos de infección por hongos, se hizo el aislamiento mediante siembra directa, transfiriendo una porción de micelio a una caja de Petri con medio de cultivo SDA. A esta muestra se le adicionaron aislamientos de la Colección de Microorganismos de Cenicafé, obtenidos de Brasil, Estados Unidos, Australia y Nueva Zelanda. De estos aislamientos se realizaron cultivos monoespóricos.

Obtención de DNA. Se seleccionaron los cultivos monoespóricos de 33 aislamientos de *Metarhizium* provenientes de diferente localidad, cultivo y hospedero, y como “outgroups” un aislamiento de *Lecanicillium* spp. así como de *Beauveria bassiana* (Tabla 1). Para la extracción se utilizó la metodología descrita por Jurgüen (6) con algunas modificaciones: a partir de cada cultivo monoespórico se preparó una suspensión de concentración 1×10^8 esporas/mL. Se tomó 1 mL de dicha suspensión y se inoculó en 100 mL de SDB (Sabouraud líquido) y se incubó a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con agitación de 110 rpm, durante tres días. El micelio obtenido se filtró al vacío usando papel de filtro (Whatman N°1) esterilizado y se

lavó tres veces con agua destilada estéril. Posteriormente, con una espátula esterilizada, se removió el micelio del papel de filtro y se ubicó sobre toallas de papel esterilizadas, para luego retirarles completamente el agua por medio de presión. Una vez seco el micelio, éste se depositó en un mortero de porcelana y se maceró con nitrógeno líquido hasta pulverizarlo.

Este micelio se depositó en tubos Corning de 15 mL, con 5 mL de búfer de extracción (Tris HCl 100mM, ácido etilén diaminotetraacético (EDTA) 10 mM, dodecil sulfato de sodio (SDS) 1%), se homogenizó en vórtex y se incubó en baño de María a 65°C , durante una hora. Luego, los tubos se centrifugaron a 9.000 r.p.m., durante diez minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante se recuperó, se le adicionó $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de RNAsa y se incubó a 37°C durante una hora. Posteriormente, se adicionó un volumen de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1) y se mezcló suavemente, durante diez minutos. Luego se centrifugó a 5.000 r.p.m. durante diez minutos. Se realizó otra limpieza del sobrenadante recuperado, adicionando un volumen de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1). Se mezcló suavemente durante diez minutos y se centrifugó a 5.000 r.p.m. durante diez minutos.

Al sobrenadante recuperado se le adicionaron 2,5 volúmenes de acetato de sodio 0,3 M preparado en etanol al 70% y se agitó por inversión hasta observar la formación del precipitado de ADN. El sobrenadante se eliminó luego de centrifugar a 9.000 r.p.m., durante 15 minutos. El precipitado obtenido se lavó con etanol al 75%, se dejó secar a temperatura ambiente y se resuspendió en 300 μL de búfer EB (Tris-HCl 10mM) pH 8,0. La concentración de ADN se determinó utilizando un fluorómetro TBS 380 Turner Biosystems INC.

Obtención de AFLPs. Para la obtención de los AFLPs se siguió el protocolo descrito por el “AFLP Microorganism Primer Kit” (GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD), con algunas modificaciones. La concentración de ADN de todas las cepas se estandarizó en 10 ng.uL⁻¹, utilizando 180 ng de cada cepa en total, para la digestión durante tres horas con las enzimas de restricción EcoR 1 y Mse 1, teniendo como volumen final 25 uL. En la reacción de ligación de los adaptadores, se agregaron 24 uL de solución con los adaptadores y 1 uL de ligasa a cada muestra digerida. Luego de tres horas de incubar a 20°C no se realizó la dilución 1:10 recomendada por el kit. Para la preamplificación se realizó una reacción de PCR, con un volumen final de 25 uL, agregando 3 uL de la reacción previa de digestión y ligación. El programa de PCR se corrió en un termociclador (PTC-200 MJ Research Inc.) con una denaturación inicial de 94°C, durante dos minutos, una denaturación de 94°C por 30 segundos, alineamiento a 56°C por 60 segundos, extensión de 72°C por 30 segundos, 20 ciclos en total. El producto de la reacción se diluyó (1:50) en búfer TE y se almacenó a -20°C.

En la amplificación selectiva se utilizaron las combinaciones de *primers* M-G y E-AT. La reacción de PCR se llevó a un volumen final de 25 uL. El programa de PCR se corrió en un termociclador (PTC-100 MJ Research.Inc) con una denaturación inicial de 94°C, durante dos minutos, una denaturación de 94°C por 20 segundos, alineamiento a 66°C por 30 segundos, extensión de 72°C por 25 segundos, bajando 1°C la temperatura de alineamiento por ciclo hasta llegar a 56°C, temperatura a la cual se realizaron 31 ciclos más en total. Los productos se separaron en un gel de acril/bisacrilamida 4% a 2.500 V y 110 Ma, durante una hora y media, utilizando 5 uL de la reacción de preamplificación. La fijación se llevó a cabo con ácido acético glacial al 10% y después el gel fue teñido con plata, durante 40 minutos. Luego de revelarlo con solución de revelado (60 g de Na₂CO₃, C₆H₄(CH₃)₂ al 37%, 10 mg.mL⁻¹ de tiosulfato de sodio, 2.000 mL de H₂O), se detuvo la reacción con ácido acético glacial en etanol absoluto, se dejó secar el gel durante 12 horas a temperatura ambiente y se tomó una foto digital.

Tabla 1. Características de los aislamientos de *Metarhizium* spp. Ma: Aislamientos obtenidos de insectos; PSMa: Aislamientos provenientes de suelo usando trampas de *Galleria mellonella*.

Código	Cepa	Procedencia	Hospedero	
			Orden	Familia
M1	Ma 9902	Colombia (Villamaría - Caldas)	Hemiptera	Miridae
M2	Ma 9303	Colombia (Amalfi - Antioquia)	Coleoptera	Scolytidae
M3	Ma 9209	Colombia (Caquetá)	-	-
M4	Ma 0002	Colombia (Chinchiná - Caldas)	Hymenoptera	Formicidae
M7	PSMa 03150	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M8	PSMa 03119	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M9	PSMa 03123	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae

Continúa...

...continuación.

Código	Cepa	Procedencia	Hospedero	
			Orden	Familia
M10	PSMa 03129	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M11	PSMa 0302	Colombia (Naranjal - Caldas)	Lepidoptera	Pyrallidae
M12	PSMa 0314	Colombia (Naranjal - Caldas)	Lepidoptera	Pyrallidae
M13	PSMa 0331	Colombia (Naranjal - Caldas)	Lepidoptera	Pyrallidae
M15	Ma 9212	Nueva Zelanda	Coleoptera	Scarabaeidae
M16	Ma 9205	Estados Unidos	Coleoptera	Curculionidae
M17	Ma 9222	Australia	Coleoptera	Scarabaeidae
M18	PSMa 03133	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M19	PSMa 03107	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M20	PSMa 03144	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M21	Ma 9901	Colombia (Armero - Tolima)	Coleoptera	Curculionidae
M22	Ma 9903	Colombia (Villamaría - Caldas)	Coleoptera	Curculionidae
M23	Ma 9905	-	Coleoptera	Curculionidae
M24	Ma 9904	Colombia (Chinchiná - Caldas)	Coleoptera	Melalonthidae
M25	Ma 0004	Colombia (Chinchiná - Caldas)	Coleoptera	Melalonthidae
M26	Ma 0006	Colombia (Santa Rosa de Cabal - Risaralda)	Coleoptera	Curculionidae
M27	Ma 0101	Colombia (Chinchiná - Caldas)	Hymenoptera	Formicidae
M28	Ma 0102	-	Lepidoptera	Papilionidae
M29	Ma 9229	Brasil	Homoptera	Cercopidae
M32	Ma 9217	Nueva Zelanda	Coleoptera	Scarabaeidae
M33	Ma 9201	Estados Unidos	Coleoptera	Curculionidae
M34	Ma 0301	Colombia (Antioquia)	Coleoptera	-
M35	PSMa 03148	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M36	PSMa 03138	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M37	PSMa 03142	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Lepidoptera	Pyrallidae
M38	Ma 0302	Colombia (Chinchiná - Caldas)	Coleoptera	Curculionidae
	Bb 9119	Colombia (Risaralda)	Coleoptera	Scolytidae
	<i>Lecanicillium</i> sp.	Colombia (El Rosario - Antioquia)	Homoptera	Coccidae

Para analizar los marcadores obtenidos, se utilizó el programa ImageMaster™ 1D Image Analysis Software y se elaboró una matriz binaria, donde la codificación de las bandas se representó con el número uno para la presencia y cero para la ausencia. A partir de la matriz binaria obtenida y con la ayuda de la herramienta de software INFOSAT, se realizó el agrupamiento de los aislamientos mediante análisis de conglomerados, construyendo una matriz de similitud con el coeficiente de Jaccard (S), distancias genéticas (D) determinadas como $D=(1-\text{Raíz cuadrada de } (1-S))$, y el algoritmo UPGMA. Igualmente se realizó el análisis no jerárquico de coordenadas principales (PCORDA).

Amplificación de ITS (*Internal Transcribed Spacers*). Con el fin de evaluar la diversidad genética de los aislamientos de *Metarhizium* spp. de la zona cafetera central colombiana, y basados en el hecho de que algunas secuencias en el ADN ribosomal han sido ampliamente utilizadas en los estudios taxonómicos (4), se abordó la estrategia de la amplificación mediante PCR (*Polimerase Chain Reaction*) de las secuencias presentes entre los genes ribosomales, conocidas como Secuencias Internas Transcritas o ITS, las cuales constituyen una fuente importante de variabilidad. Dado que los ITSs no codifican para algún gen, las mutaciones que allí ocurren no afectan el desarrollo del organismo y, por lo tanto, se acumulan. De esta manera, los ITSs pueden presentar importantes variaciones en tamaño y en secuencia, con fines de caracterización.

La amplificación de las secuencias espaciadoras internas (ITS) del ADN ribosomal (Figura 1) se realizó utilizando los iniciadores ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') e ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'), los cuales permiten la amplificación de un fragmento de rADN que incluye las regiones ITS1, ITS2 y el gen ribosomal 5.8S (1, 8).

Las reacciones de PCR se realizaron en tubos eppendorf de 0,5 mL, en un volumen final de 50 µL con los siguientes componentes: 0,2 µM de cada iniciador, búfer PCR 1X (20 mM TrisHCl Ph 8,4, 50 mM KCl), 2,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada uno de los deoxinucleótidos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 1,25 U de Taq polimerasa y 50 ng de ADN. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador MJ Research Inc PTC-200, utilizando las siguientes condiciones: una denaturación inicial de 94°C durante 5 minutos, seguida de 30 ciclos de 94°C por 1,5 minutos, alineamiento a 55°C por un minuto, extensión de 72°C por dos minutos. Por último, se realizó una extensión final a 72°C por cinco minutos.

El resultado de la amplificación fue evaluado tomando 8 µL de cada reacción y realizando una electroforesis en gel de agarosa al 1%, 80V durante dos horas en búfer TAE 1X (Tris-Acetato 40 mM y EDTA 1 mM; pH 8,0). Los productos amplificados se detectaron adicionando al gel 1 µL de una solución de bromuro de etidio de 10 mg.mL⁻¹ y el tamaño de cada fragmento se determinó mediante el empleo del software *Image Master VDS* Versión 3.0 por comparación

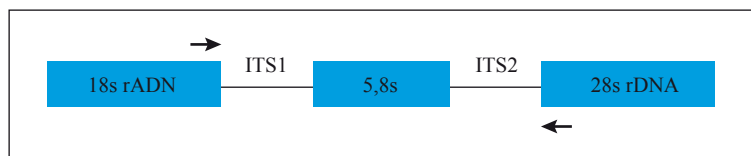


Figura 1. Esquema representativo de los genes del ADN ribosomal y los ITSs amplificados por PCR.

con el marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA ladder (Invitrogen).

Amplificación del gen de β -Tubulina. Un intrón y parte de dos exones del gen de la β -tubulina (Figura 2) se amplificaron usando los iniciadores: Bt-T2m-Up (5' CAACTGGGCTAAGGG TCATT-3') y Bt-LEV-Lo1 (5'-GTGAACTCCATCTCGTCCATA-3') (5). Para las reacciones de PCR se utilizaron las condiciones mencionadas anteriormente, para la amplificación de los ITS.

Clonación y secuenciación. Los fragmentos obtenidos se clonaron siguiendo la metodología descrita en el manual del *Kit pGEM T-easy Vector System II* (Promega, Madison, WI), haciendo transformaciones de células competentes (JM 109). Se utilizó una concentración de 50 uL de las células competentes y 5 ng.mL⁻¹ de DNA de cada muestra, con una relación inserto:vector de 3:1. Para seleccionar células transformadas, se sembraron alícuotas de 100 uL en cajas con LB más ampicilina al 1%, con 100 uL de IPTG y 20 uL de X-gal. Éstas se incubaron a 37°C por 12-16 horas. Finalmente, mediante un *Colony* PCR, se determinó el tamaño del inserto. Los plásmidos que contenían los fragmentos se purificaron mediante el protocolo descrito por el *Kit Miniprep* de QIAGEN y se enviaron a secuenciar a la compañía Macrogen, Corea del Sur. Mediante protocolos diseñados en el Laboratorio de Bioinformática de Cenicafé, se procesaron los datos de secuenciación y se analizaron las secuencias limpias obtenidas.

RESULTADOS

Marcadores AFLPs. Las reacciones de AFLP produjeron 230 marcadores repetibles, que generaron una huella digital (*Fingerprint*) única para cada aislamiento. El coeficiente de correlación cofenética, que indica la correlación de las distancias definidas por la métrica de árbol binario con las distancias originales entre aislamientos, indicó un valor usando la distancia genética basada en el índice de Similitud de Jaccard, con UPGMA de 0,68. En el dendrograma resultante se aprecia la conformación de tres grupos, separados por distancias genéticas superiores a 0,5 y claramente diferenciables de las especies escogidas como “*outgroup*”, *Lecanicillium* y *Beauveria* (Figura 3).

El análisis de coordenadas principales muestra una composición de vectores que tienen un efecto individual mínimo, en la explicación de la variabilidad observada, lo que sugiere que no hay marcadores AFLPs que definan la separación de los grupos. El árbol de recorrido mínimo refleja nuevamente la agrupación obtenida en el análisis de conglomerados (Figura 4). Aislamientos de la Colección de Microorganismos de Cenicafé obtenidos de Brasil, Estados Unidos, Australia y Nueva Zelanda se agrupan con los aislamientos colombianos en dos de los grupos. No se aprecia una asociación entre los grupos y su origen geográfico u hospedero.

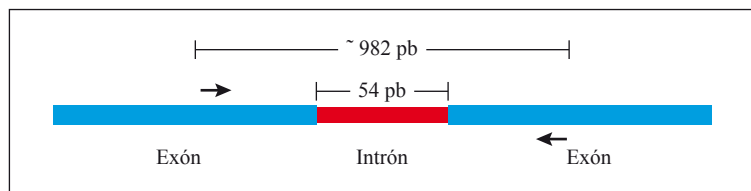


Figura 2. Esquema representativo de los dos exones del gen de β -tubulina y el intrón amplificados por PCR.

Análisis de secuencias de ITS y beta-tubulina

La comparación con otros hongos Ascomycetes en el análisis CLUSTAL de las secuencias de DNA ribosomal de los aislamientos de la zona cafetera central (Figura 5) indica la ubicación dentro de la especie *M. anisopliae*, y los agrupa en la subespecie *M. anisopliae anisopliae*, una de las varias subespecies reportadas en la literatura, y cercana a *M. anisopliae majus* y *M. anisopliae lepidiatum*. El estudio de la región 3' del gen de la beta-tubulina revela la existencia de dos alelos o dos copias independientes en el genoma de *Metarhizium*. Una de las secuencias (β tub-1) apareció con más frecuencia, a pesar de ser la menos encontrada en otros hongos. Para algunos aislamientos se identificaron las dos versiones del gen. El análisis de agrupamiento muestra la separación entre especies utilizando esta región (Figura 6).

DISCUSIÓN

Con el propósito de caracterizar las poblaciones de *Metarhizium* spp. asociadas a suelos y cultivos de la zona cafetera, se completó el análisis molecular basado en marcadores presentes en todo el genoma, así como en variaciones de regiones puntuales con significado taxonómico. Se encontró que la única especie presente en los muestreos fue *M. anisopliae* subespecie *anisopliae*, como lo indica el análisis de DNA ribosomal. No se evidencia por estas secuencias o las de beta-tubulina una especiación en proceso.

La variabilidad nula en cuanto a especies, presenta como contraste una alta variabilidad intraespecífica con tres poblaciones claramente diferenciadas. El estado perfecto asociado a *Metarhizium* es *Cordyceps* sp., en el cual también están ubicados los estados perfectos de otros hongos como *Beauveria*.

Taxonómicamente éstos se describen como pertenecientes a Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreales, Hypocreales, Clavicipitaceae, *Cordyceps*. Sin embargo, las distancias genéticas tan altas, tanto entre grupos como entre individuos de los grupos, sugerirían un bajo intercambio de material genético vía recombinación sexual y predominancia de reproducción clonal. A pesar de esto, no se encontraron aislamientos con distancias inferiores a 0,6 (en escala de 0 a 1). Las tres poblaciones comparten nichos ecológicos al encontrarse conviviendo en las mismas zonas. El hecho de observarse similitud genética con aislamientos de sitios distantes como Australia, Estados Unidos y Brasil, puede indicar una constitución poblacional similar en estos lugares y una dispersión mundial de los genotipos de *Metarhizium*. Esta distribución disminuye el efecto de introducciones de cepas (formulaciones biológicas) foráneas en la zona cafetera. De igual manera, la baja recombinación puede ser positiva en la evaluación de riesgos de cepas transgénicas, debido a la tasa reducida de movimiento de los genes modificados/introducidos entre individuos.

De otro lado, la alta variabilidad puede ser una fuente interesante para la formulación de productos que tomen ventaja de las mezclas intraespecíficas, para incrementar poblaciones en cultivos donde se utilice el control biológico en la zona cafetera. Como se ha observado en *Beauveria* (3), el diseño de estas mezclas combinado con información de virulencia del biocontrolador, puede incrementar de manera significativa la eficiencia (mortalidad y tiempo de muerte) en el caso de entomopatógenos. La adaptabilidad y ubicuidad de *Metarhizium* en la zona cafetera lo hacen un microorganismo idóneo como alternativa en el manejo de plagas, tanto de café como de sus cultivos asociados.

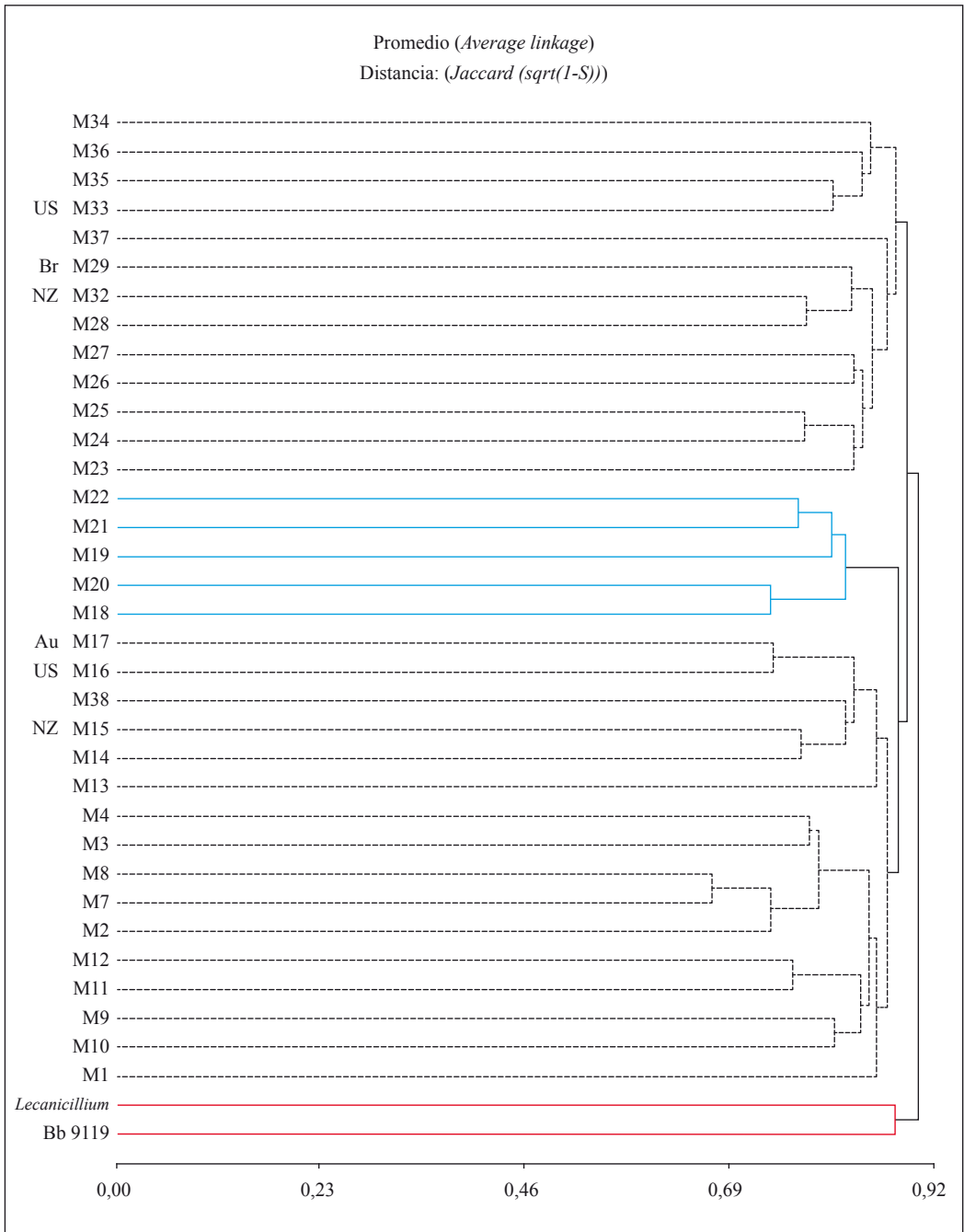


Figura 3. Dendrograma derivado del análisis UPGMA de los marcadores AFLP obtenidos para aislamientos de *Metarhizium* spp. de la zona cafetera. El eje X corresponde a las distancias genéticas. NZ=Nueva Zelandia; Au=Australia; US=Estados Unidos; Br=Brasil.

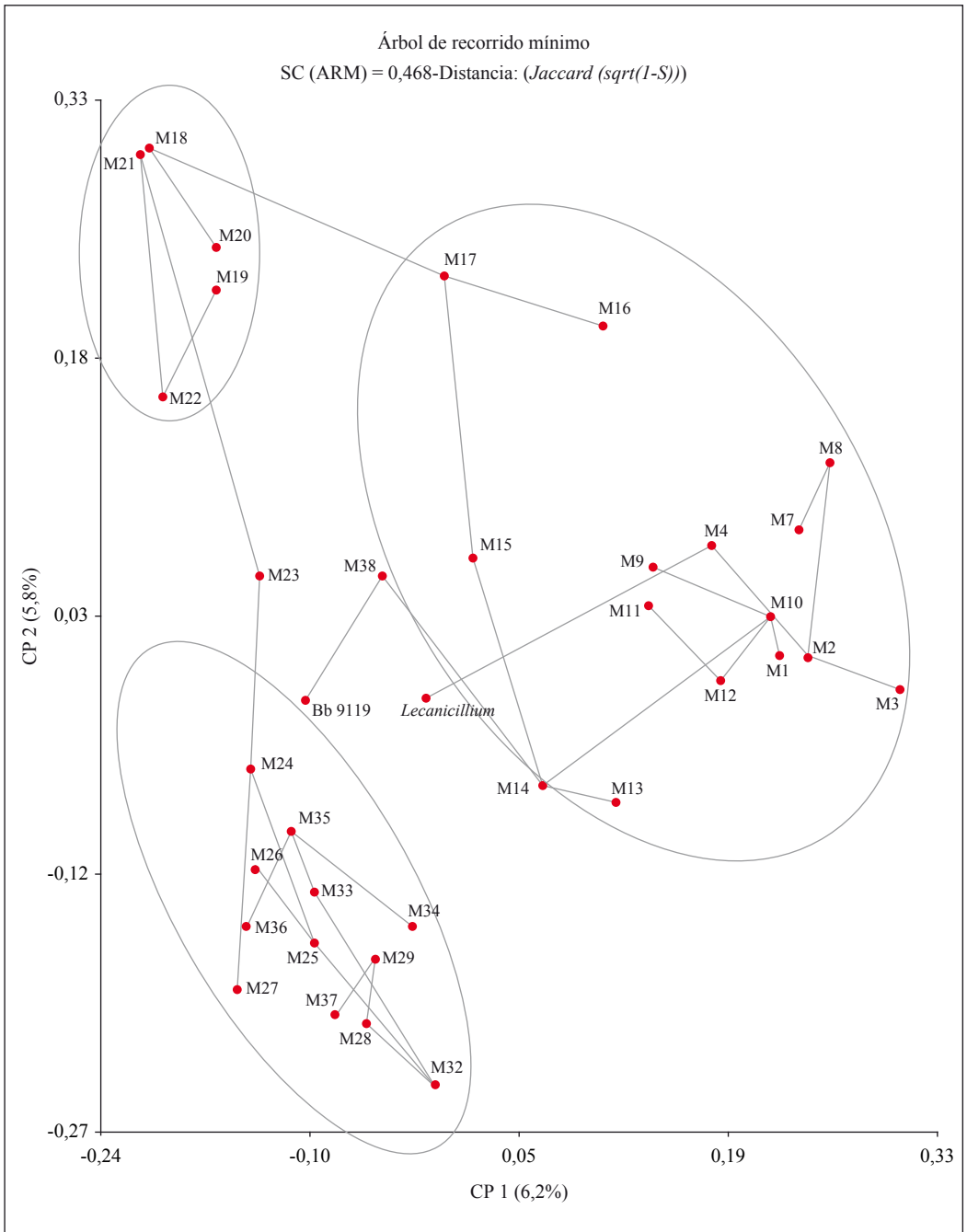


Figura 4. Análisis de Coordenadas Principales con Árbol de recorrido mínimo para los aislamientos de *Metarhizium* spp. obtenidos en la zona cafetera y analizados mediante marcadores AFLPs. Los círculos representan los grupos obtenidos mediante el análisis de Conglomerados.

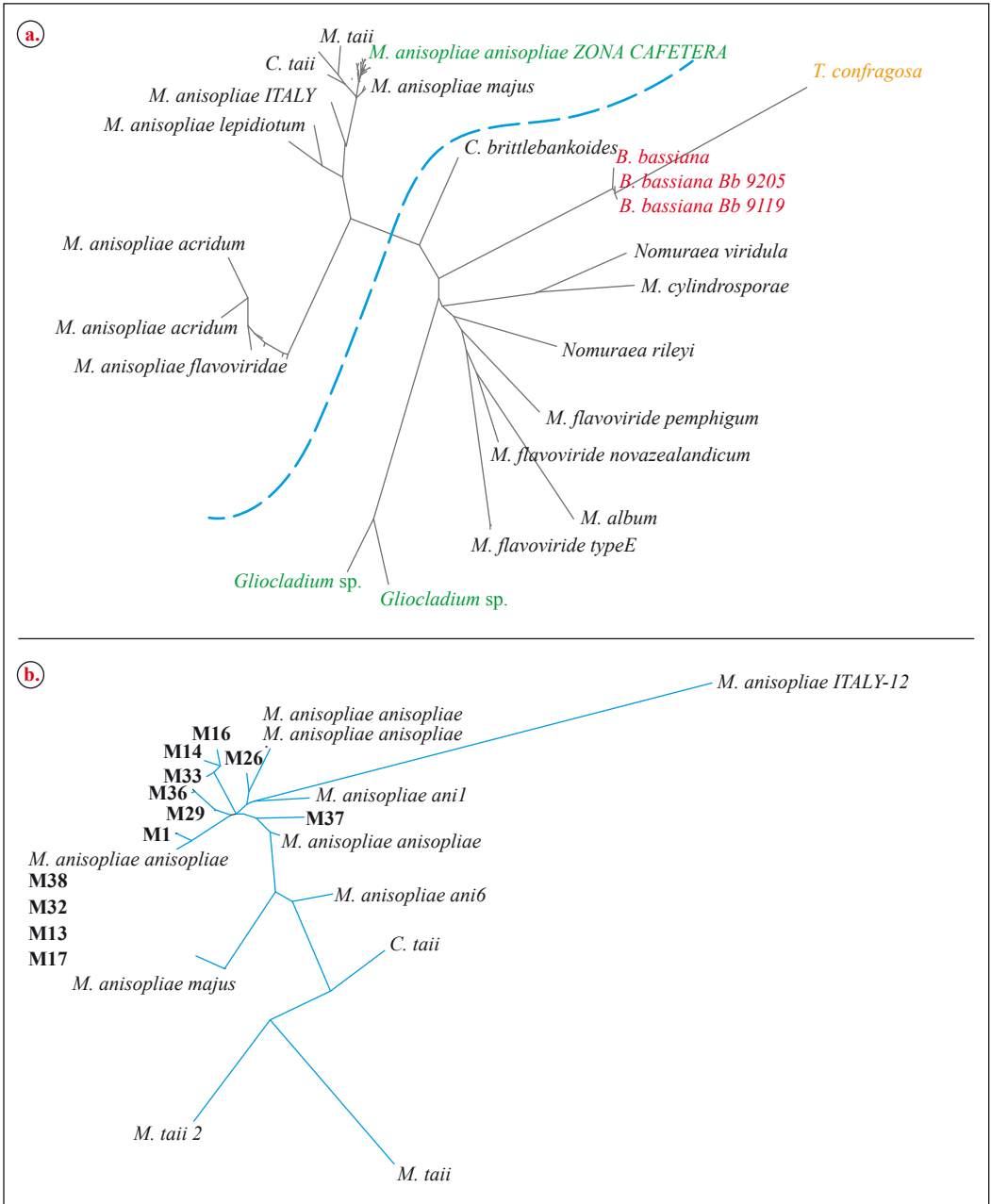


Figura 5. a. Dendrograma sin raíz basado en las secuencias de DNA ribosomal de los aislamientos de *Metarhizium* de la zona cafetera, con especies de los géneros *Metarhizium*, *Gliocladium*, *Beauveria*, *Cordyceps* y *Torriubiella*. La línea punteada sugiere la separación entre la especie *M. anisopliae* y otras especies del género u otros géneros; **b.** Dendrograma a nivel de subespecie *M. anisopliae anisopliae* con los aislamientos de la zona cafetera marcados en negrilla.

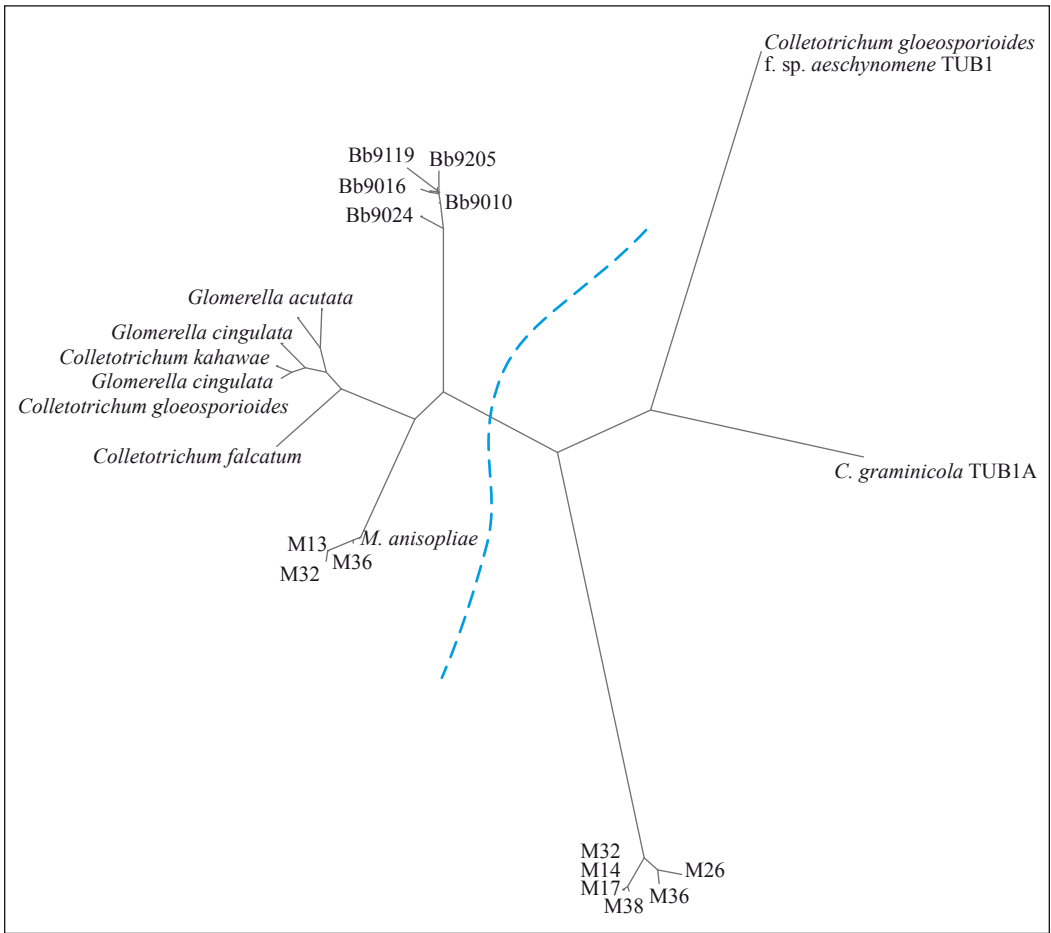


Figura 6. Dendrograma sin raíz basado en las secuencias de beta-tubulina de los aislamientos de *Metarhizium* de la zona cafetera, con especies de los géneros *Metarhizium*, *Beauveria* (Bb) y *Glomerella* (estado perfecto de *Colletotrichum*). La línea punteada sugiere la separación entre los dos tipo de Beta-tubulina.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio se realizó gracias al apoyo financiero del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo territorial de Colombia por medio del Convenio Especial de Cooperación Científica y Tecnológica No. 021 de 2002, y de la Federación Nacional de Cafeteros a través del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé.

LITERATURA CITADA

1. CHILLALI, M.; IDDER, H.; GULAUMIN, J.; MOHAMMED, C.; ESCARMANT, L.; BOTTON, B. Variation in the ITS and IGS regions of ribosomal DNA among the biological species of European *Armillaria*. *Mycological research* 102(5):533-540. 1998.
2. CROLL, D.; MCDONALD, B. The genetic basis of local adaptation for pathogenic fungi in agricultural ecosystems. *Molecular ecology* 26(7):2027-2040. 2017.

3. CRUZ, L.P.; GAITÁN B., A.L.; GÓNGORA B., C.E. Exploiting the genetic diversity of *Beauveria bassiana* for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. *Applied microbiology and biotechnology* 71(6):918-26. 2005.
4. HILLIS, D.; DIXON, M. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *Quarterly review of biology* 66(4):411-453. 1991.
5. JONG, S. DE J.; LÉVESQUE, C.A.; VERKLEY, G.; ABELN, C.A.; RAHE, J.E; BRAUN, G. Phylogenetic relationships among *Neofabrea* species causing tree cankers and bull's-eye rot of apple based on DNA sequencing of ITS nuclear rDNA, mitochondrial rDNA, and the β -tubulin gene. *Mycological research* 106(6):658-669. 2000.
6. J JURGÜEN, W.; LENGELER, K.B.; KOTHE, E. An instant preparation method for nucleic acids of filamentous fungi: Molecular genetics. [En línea]. Marburg : Philipps university, 2001. Disponible en internet: <http://www.fgsc.net/fgn43/wendlan.html>.
7. TAYLOR, J.W.; BRANCO, S.; GAO, C.; HANN S., C.; MONTOYA, L.; SYLVAIN, I.; GLADIEUX, P. Sources of fungal genetic variation and associating it with phenotypic diversity. *Microbiology spectrum* 5(5):FUNK-0057-2016. 2017.
8. WHITE, T.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for Phylogenetics. p. 315-322. En: INNIS, M.; GELFAND, D.; SNINSKY, J.; WHITE, T. PCR protocols: A guide to methods and applications. San Diego : Academic press, 1990. 482 p.
9. ZANETTE, G.; NÓBREGA, G.; MEIRELLES, L. Morphogenetic characterization of *Colletotrichum sublineolum* strains, causal agent of anthracnose of sorghum. *Tropical plant pathology* 34(3):146-151. 2009.

EVALUACIÓN DE COAGULANTES DE EXTRACTOS NATURALES DE *Moringa oleifera* Y *Jatropha curcas* EN LAS AGUAS RESIDUALES DEL CAFÉ

Laura Vanessa Quintero Yepes*; Nelson Rodríguez Valencia**

QUINTERO Y., L.V.; RODRÍGUEZ V., N. Evaluación de coagulantes de extractos naturales de *Moringa oleifera* y *Jatropha curcas* en las aguas residuales del café. Revista Cenicafé 69(1):68-82. 2018

Se realizó la evaluación del efecto coagulante de los extractos de *Moringa oleifera* y *Jatropha curcas* sobre aguas residuales del café a pH original, después de realizarles un tratamiento primario y adicionando al tiempo hidróxido de calcio y el extracto natural, sobre las aguas residuales del café. Para los tratamientos evaluados con agua residual a una concentración de DQO de 12.500 ppm (valor mínimo de concentración proveniente del beneficio ecológico del fruto en tanques de fermentación) se determinó que no hubo diferencias estadísticas, a un grado de confiabilidad del 95% (prueba Tukey) en la remoción de DQO, para los tratamientos T6: Extracto de *J. curcas* + Ca(OH)₂ (3.000 ppm), T5: Extracto de *J. curcas* (1.500 ppm) + Ca(OH)₂ (2.600 ppm) y T4: Extracto de *J. curcas* (1.500 ppm); sin embargo, estos tres tratamientos fueron estadísticamente diferentes de T1: Tratamiento testigo con sulfato de aluminio y T2: Extracto de *M. oleifera* (4.000 ppm) + Ca(OH)₂ (2.600 ppm), aunque entre éstos no hubo diferencias estadísticas en las remociones de DQO. Para los tratamientos evaluados utilizando agua residual a una concentración de DQO de 25.000 ppm logró determinarse que no se presentaron diferencias estadísticas, a un grado de confiabilidad del 95%, en la remoción de DQO para los tratamientos T1: Tratamiento testigo con sulfato de aluminio y T3: Extracto de *M. oleifera* (5.000 ppm). Para todos los tratamientos evaluados se obtuvieron remociones superiores al 60% en la DQO.

Palabras clave: Tratamiento de aguas, contaminación hídrica.

EVALUATION OF NATURAL EXTRACTS COAGULANTS OF *Moringa oleifera* AND *Jatropha curcas* IN COFFEE WASTEWATER

The evaluation of the coagulant effect of the *Moringa oleifera* and *Jatropha curcas* extracts on coffee wastewater was made in coffee wastewater at original pH after a primary treatment and adding, at the same time, calcium hydroxide and natural extract to the coffee wastewater. For the treatments evaluated with residual water at a COD concentration of 12,500 ppm (minimum value of concentration from the ecological process of the berries in fermentation tanks), there were no statistical differences in COD removal for T6: Extract of *J. curcas* + Ca (OH)₂ (3,000 ppm), T5: Extract of *J. curcas* (1,500 ppm) + Ca (OH)₂ (2,600 ppm), T4: Extract of *J. Curcas* (1,500 ppm). However, these three treatments were statistically different from T1: Control treatment with aluminum sulphate and T2: *M. oleifera* extract (4,000 ppm) + Ca (OH)₂ (2,600 ppm), although there were no statistical differences in COD removals between these two last treatments. For the treatments evaluated using wastewater at a COD concentration of 25,000 ppm there were no statistical differences in the removal of COD for T1: Control treatment with aluminum sulfate, and T3: *M. oleifera* extract (5,000 ppm). For all treatments evaluated, removals above 60% in COD were obtained.

Keywords: Water treatment, water pollution.

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

Las aguas residuales provenientes del beneficio húmedo del café se caracterizan por tener una alta acidez (entre 110 y 220 mg NaOH/g DQO), valores de pH bajos (entre 3 y 4 unidades) y altas concentraciones de contaminación orgánica, expresada como DQO (entre 25.000 y 100.000 mg.L⁻¹, dependiendo de la cantidad de agua utilizada en el beneficio del fruto de café) (11).

En Cenicafé, desde 1984, se han evaluado diferentes procesos físicos, químicos y biológicos, para disminuir la contaminación generada por las aguas residuales del café y obtener unos vertidos que cumplan con lo dispuesto por la normativa colombiana en el decreto 1594 de 1984 (vigente aún para vertimientos al suelo) y en la resolución 631 del 2015 (para vertidos a cuerpos de agua superficial).

Los resultados obtenidos en las investigaciones desarrolladas en Cenicafé establecen que, para la topografía colombiana y por costo-eficiencia, el mejor tratamiento para las aguas residuales del café es biológico, utilizando la digestión anaeróbica y empleando sistemas modulares para el tratamiento anaerobio de las aguas residuales del café, SMTA (11).

Los altos tiempos de retención hidráulica en los SMTA (una semana), aunado a la gran sensibilidad del sistema biológico ante incrementos de cargas hidráulicas y cargas orgánicas y los altos tiempos requeridos para la recuperación del sistema (superiores a un mes) (11), han hecho necesaria la búsqueda de alternativas de tratamiento diferentes a los sistemas biológicos anaerobios.

Una de las alternativas que puede ser viable para la depuración de las aguas residuales del beneficio del café es el tratamiento químico por medio de procesos de coagulación-floculación con sales químicas, los cuales son procesos

de desestabilización química de las partículas coloidales, que se producen al neutralizar las fuerzas que las mantienen separadas, por medio de la adición de productos químicos (coagulantes), después de la desestabilización dichas partículas se aglomeran formando floculos que se sedimentan fácilmente (10).

Sin embargo, el tratamiento químico tiene altos costos y los productores que estén certificados con sellos ambientales no tienen permitido utilizar este tipo de productos químicos en sus procesos. Por ello, el uso de coagulantes naturales, obtenidos a partir de diferentes partes de diversas especies vegetales, los cuales ejercen un papel similar al de las sales químicas, se constituyen en una alternativa que debe ser estudiada y evaluada con el fin de satisfacer las necesidades tecnológicas de los caficultores, para el tratamiento de las aguas residuales.

Las evaluaciones de coagulantes naturales a base de especies vegetales se han concentrado principalmente en las especies de *Moringa oleifera* y *Opuntia ficus*, para el tratamiento de aguas residuales (8). Yongabi (9), reportó la capacidad coagulante y desinfectante de la *Moringa oleifera*, *Jatropha curcas* (piñón mexicano), *Pleurotus tuberregium sclerotium* (hongo basidiomiceto) e *Hibiscus sabdariffa* (rosa de Jamaica), comparándolas con el alumbre (sulfato de aluminio) en muestras de aguas residuales.

En Colombia, se ha evaluado la eficiencia de la semilla de *Moringa oleifera* en el tratamiento de las aguas residuales provenientes de centrales de sacrificio. Los resultados demostraron la eficiencia de las semillas para remover la turbidez entre un 85,0% y 86,7%, mientras que la remoción de color alcanzó porcentajes entre 67,4% y 93,0%, con una aplicación de dosis de 7.500 mg.L⁻¹ a una concentración del 5% (5).

Para el caso de las aguas residuales del café, Gutiérrez *et al.* (4) evaluaron el efecto del polvo de semilla de *Moringa oleifera*, comparándola con sulfato de aluminio, encontrando que el polvo de la semilla de *Moringa oleifera* es más efectivo en la remoción de los diferentes parámetros fisicoquímicos. La dosis óptima encontrada en el estudio fue de 4 g por 600 mL de agua residual.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el uso de extractos naturales de dos especies vegetales con capacidad depurativa, como alternativa para el tratamiento de las aguas residuales del café y comparar su eficiencia con la obtenida usando sales químicas, ya que utilizan el mismo principio de tratamiento (coagulación-floculación), valorando parámetros como la eficiencia de remoción de carga orgánica, en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos Suspendedos Totales (SST).

Para ello, se realizaron diferentes pruebas de tratamiento al agua residual del beneficio del café, utilizando extractos de dos especies vegetales, *Moringa oleifera* y *Jatropha curcas*. Se realizó la selección de las dosis óptimas, se determinó la carga orgánica (medida como DQO) del agua residual tratada y se comparó con la carga orgánica del agua residual sin tratamiento para determinar la eficiencia de remoción en cada uno de los tratamientos evaluados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el proceso de tratamiento de las aguas residuales del beneficio por medio del proceso de coagulación-floculación, se seleccionó la semilla de dos especies vegetales *Moringa oleifera* y *Jatropha curcas* como el órgano de mayor efecto coagulante (1, 4, 6, 7, 9).

Las semillas de *Jatropha* y de *Moringa* se sometieron a procesos de descascarado, secado a 30°C hasta peso constante, y molienda.

A las semillas secas y molidas se les realizó la extracción de grasas, por medio de un procedimiento de extracción sólido-líquido, en un equipo Soxhlet, usando etanol como solvente, a una concentración de 10% P/V (3), y se realizó la extracción del compuesto coagulante utilizando cloruro de sodio a una concentración de 1,0 N, sometiendo la muestra a un proceso de licuefacción y posterior filtración (6).

Se realizaron pruebas de coagulación con la semilla seca molida y con el extracto líquido obtenido después de realizar la extracción del compuesto coagulante, se evaluó el efecto sobre las aguas residuales a pH original, después de realizar el tratamiento primario con Ca(OH)_2 y adicionando al tiempo el extracto y el hidróxido de calcio.

La evaluación del efecto coagulante de los extractos se hizo mediante el test de jarras; para ello se aplicó el extracto en 500 mL de agua residual (unidad experimental) y se realizó una agitación a 120 rpm durante 5 min, seguidamente se agitó a 60 rpm durante 25 min y, finalmente, se dejó sedimentar (a temperatura ambiente) por 24 h. Después de este proceso se determinó la absorbancia (por espectrofotometría), a una muestra de 25 mL. Por cada dosis evaluada se tuvieron diez unidades experimentales. Se utilizó como testigo un coagulante químico (sulfato de aluminio), utilizando el mismo procedimiento de aplicación que para el extracto natural y tipo de agua residual.

Una vez realizadas las pruebas con las dos especies vegetales y en cinco dosis diferentes, se seleccionó la dosis óptima para cada extracto y el procedimiento adecuado

para su aplicación, esta selección se realizó teniendo en cuenta la absorbancia (variable de interés).

Finalmente, a las muestras de agua tratada que presentaron los menores valores de absorbancia se les realizó la determinación de la DQO (ppm) y de los SST (ppm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para cada una de las evaluaciones realizadas

Evaluación del efecto de la semilla seca y molida de *M. oleifera*, sin extracción de grasas y del compuesto coagulante, en el tratamiento del agua residual del café a diferentes condiciones.

Inicialmente, los ensayos se realizaron a una concentración de 12.500 ppm como DQO, con el fin de determinar la metodología apropiada para realizar la aplicación y así realizar la experimentación a una concentración más alta (25.000 ppm como DQO).

Tratamiento del agua residual pH original.

La primera prueba se realizó aplicando el polvo de *M. oleifera* sobre el agua residual del beneficio del café a pH original, pero no se observó acción coagulante (Tabla 1), lo anterior dado que el pH del agua residual del café es ácido y el rango óptimo de acción de la *M. oleifera* se encuentra en valores de pH entre 6,0 y 9,0 (6).

Tratamiento del agua residual proveniente del tratamiento primario. La segunda evaluación se realizó al agua tratada, separada por sedimentación proveniente del tratamiento primario (2). En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos en esta etapa. En las evaluaciones realizadas se encontró que los

menores valores de absorbancia se presentaron cuando se utilizó una dosis de *M. oleifera* entre 6.000 y 6.800 ppm, con unos valores de absorbancia de 0,157 y 0,156 y valores de pH de 4,94 y 4,91, respectivamente.

Tratamiento del agua residual con la mezcla de hidróxido de calcio y *M. oleifera*.

La tercera evaluación se realizó aplicando el hidróxido de calcio y la *M. oleifera* en una sola etapa. Para las dosis de hidróxido se tomó como referencia lo encontrado en investigaciones de Cenicafé (2). Teniendo en cuenta los resultados de la Tabla 3, cuando se utiliza una mezcla de hidróxido de calcio con la semilla de *M. oleifera* seca y molida, para el tratamiento de aguas residuales del beneficio del café, a una concentración de 12.500 ppm como DQO, las dosis óptimas para el tratamiento son 2.600 ppm de hidróxido de calcio y 4.000 ppm de moringa. En la Figura 1 se observa el aspecto del agua después de realizar el tratamiento.

Evaluación del efecto del extracto líquido de *M. oleifera* después de realizar la extracción de grasas y del compuesto coagulante, en el tratamiento del agua residual del café a diferentes condiciones

La cuarta evaluación consistió en utilizar el extracto líquido de *M. oleifera* después de realizar los procedimientos de extracción de grasas y tratamiento salino, para ello se utilizó el agua residual proveniente del tratamiento primario y el agua original, realizando la mezcla del extracto con el hidróxido de calcio a una concentración de 2.600 ppm.

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 4, cuando se utilizó el extracto de *M. oleifera* sobre el agua residual proveniente del tratamiento primario las menores absorbancias se presentaron a una dosis de 3.000 ppm (0,442

Tabla 1. Prueba de coagulación con moringa a pH original.

Dosis Moringa (ppm)	pH (unidades)		Absorbancia (unidades)		Turbidez (FTU)	
	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)
2.000	4,12	3,60	1,623	3,17	1.028	2,73
4.000	3,89	2,89	1,793	2,71	1.031	3,82
6.000	3,59	1,53	2,027	4,44	1.101	6,12

Datos promedio de diez réplicas. C.V.: Coeficiente de Variación

Tabla 2. Pruebas de coagulación con el agua residual proveniente del tratamiento primario.

Dosis Moringa (ppm)	pH (unidades)		Absorbancia (unidades)		Turbidez (FTU)	
	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)
3.000	6,18	0,43	0,498	1,93	172	4,44
4.000	5,86	0,87	0,310	3,97	152	6,93
4.800	5,51	0,76	0,258	2,96	144	5,67
5.200	5,47	0,62	0,191	1,48	113	6,27
5.600	5,14	1,18	0,166	3,08	93	7,90
6.000	4,94	0,65	0,157	2,22	70	6,43
6.800	4,91	0,67	0,156	2,41	69	6,38
7.600	4,76	0,57	0,169	1,72	77	4,40
8.000	4,57	1,21	0,189	2,63	99	5,90
8.400	4,44	0,85	0,275	1,91	137	7,50

Datos promedio de diez réplicas. C.V.: Coeficiente de Variación

Tabla 3. Resultados de la evaluación utilizando la mezcla de hidróxido de calcio - Ca(OH)₂ y *M. oleifera*.

Dosis Hidróxido de calcio (ppm)	Moringa (ppm)	pH (unidades)		Absorbancia (unidades)		Turbidez (FTU)	
		Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)
2.600	2.000	5,82	0,95	0,252	2,88	109	8,16
	3.000	5,74	1,45	0,291	2,65	113	8,62
	4.000	5,75	1,27	0,153	6,56	49	6,20
	5.000	5,63	0,92	0,230	5,37	80	6,59
	5.500	5,11	1,47	0,610	2,29	235	4,83
3.000	2.000	5,87	1,55	0,439	4,85	164	4,07
	3.000	5,78	0,71	0,296	2,09	142	3,84
	4.000	5,76	1,24	0,197	1,77	69	5,09
	5.000	5,67	1,51	0,250	4,65	135	3,28
	5.500	5,29	3,54	0,552	3,95	162	6,42

Datos promedio de diez réplicas. C.V.: Coeficiente de Variación

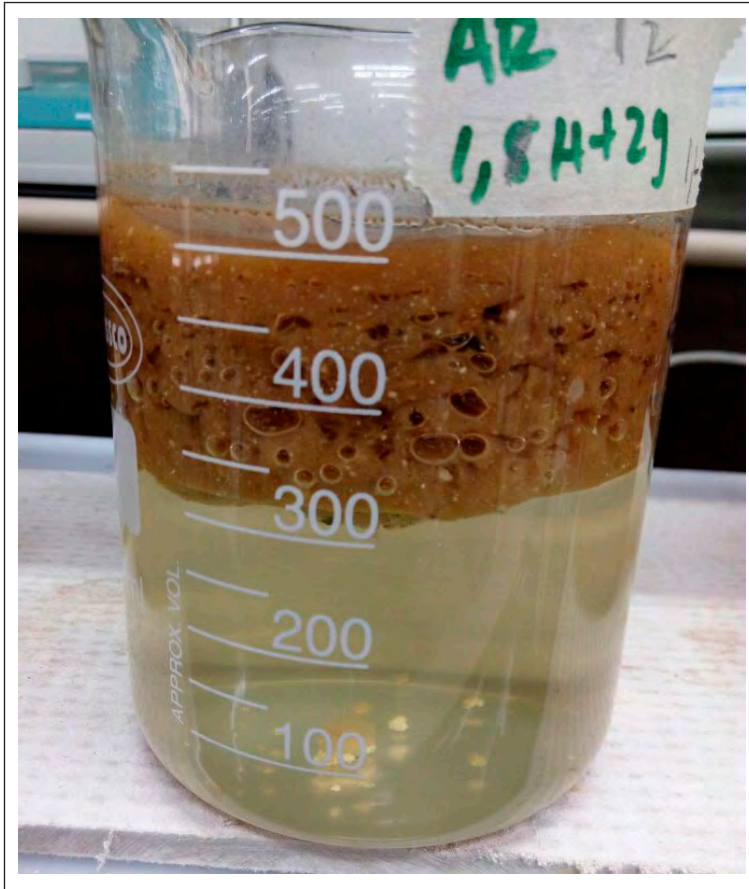


Figura 1. Aspecto del agua residual del café tratada, adicionando hidróxido de calcio y *M. oleifera*.

Tabla 4. Resultados de la evaluación utilizando el extracto líquido de *M. oleifera*.

Tipo de agua	Dosis	pH (unidades)		Absorbancia (unidades)		Turbidez (FTU)	
	Moringa (ppm)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)
Agua residual después del tratamiento primario	1.000	5,69	0,37	0,908	1,07	300	3,86
	2.000	5,54	0,45	0,831	1,60	259	10,29
	2.500	5,39	0,28	0,499	0,68	206	4,22
	3.000	5,20	0,42	0,442	0,87	154	5,19
	3.500	4,97	0,84	0,584	0,46	260	6,87
Agua residual + 2.600 ppm de hidróxido de calcio	1.000	5,52	0,36	0,420	0,34	164	5,35
	2.000	5,31	0,34	0,376	0,95	109	3,74
	2.500	5,18	0,53	0,170	0,79	96	3,24
	3.000	4,99	0,49	0,153	1,51	69	7,87
	3.500	4,53	0,72	0,199	0,83	108	5,61

Datos promedio de diez réplicas. C.V.: Coeficiente de Variación

en promedio). Sin embargo, el aspecto del agua seguía siendo turbio (164 NTU en promedio).

Cuando se aplicó el extracto líquido mezclado con el hidróxido de calcio los menores valores de absorbancia (0,153 en promedio) se presentaron a una dosis de 3.000 ppm, con valores promedio de pH y turbidez de 4,99 y 69 NTU, respectivamente.

Después de evaluar las diferentes metodologías de aplicación del coagulante obtenido de la semilla de *M. oleifera*, se encontró que la metodología más apropiada es la adición de hidróxido de calcio (a una dosis de 2.600 ppm), agitación y seguidamente, la adición de la semilla seca y molida de *M. oleifera*, ya que para estas condiciones se presentaron los menores valores de absorbancia y turbidez. La efectividad del tratamiento se explica por el acondicionamiento del pH (a valores óptimos para el funcionamiento del coagulante), y al posible efecto floculante del material

inerte, aún en suspensión, que acompaña al hidróxido de calcio utilizado.

Tratamiento del agua residual a una concentración de 25.000 ppm como DQO.

Para el agua residual a una concentración de 25.000 ppm se realizó la evaluación adicionando hidróxido de calcio, agitando y seguidamente agregando la semilla seca y molida de *M. oleifera*, dado que fue la metodología que presentó los mejores resultados cuando se realizó la evaluación a una concentración de 12.500 ppm.

En la Figura 2 se presenta el aspecto del agua residual antes y después de realizar el tratamiento con *M. oleifera*, en las condiciones óptimas.

Se evaluaron dos dosis de hidróxido de calcio, tomando como referencia los resultados del tratamiento primario (2), y se evaluaron cinco dosis de *M. oleifera*, con diez repeticiones para cada una.

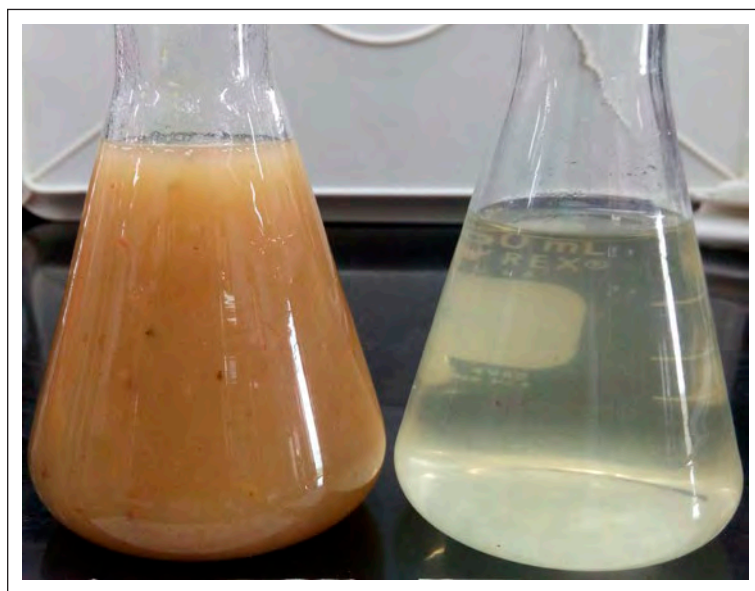


Figura 2. Aspecto del agua residual del café a 25.000 ppm de DQO antes y después del tratamiento.

En la Tabla 5 presentan los resultados obtenidos para las evaluaciones realizadas al agua a una concentración de 25.000 ppm de DQO.

Cuando se utiliza agua residual del beneficio del café a una concentración de 25.000 ppm como DQO, la dosis óptima para el tratamiento son 4.600 ppm de hidróxido de calcio y 5.000 ppm de semilla de moringa seca y molida.

Evaluación del efecto del extracto líquido de *J. curcas*, después de realizar la extracción de grasas y del compuesto coagulante, en el tratamiento del agua residual del café a diferentes condiciones

Para el caso de *J. curcas* se evaluó únicamente el extracto líquido, debido a que cuando se realizaron las pruebas con el polvo seco y molido, éste no se diluyó en el agua residual, por lo tanto, no se presentó algún cambio en las características del agua. Las evaluaciones se realizaron sobre aguas residuales del beneficio del café en dos concentraciones

(12.500 y 25.000 ppm como DQO), se evaluó el efecto sobre el agua residual al pH original y con la adición de hidróxido de calcio a dos concentraciones diferentes, tomando como referencia los resultados del tratamiento primario, en este caso se agregó el hidróxido de calcio al tiempo con el extracto de *J. curcas*, dado que el efecto coagulante de la *J. curcas* se presenta a pH ácidos (1).

En Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos en las evaluaciones de coagulación de *J. curcas* para el agua residual a una concentración de 12.500 ppm.

Según los resultados presentados cuando se aplica el extracto de *J. curcas* al agua residual a pH original, los menores valores de absorbancia (0,516 en promedio) se obtuvieron a una dosis de 1.500 ppm, con un valor promedio de pH del agua residual tratada de 3,55.

Cuando se aplica el extracto de *J. curcas* al tiempo con hidróxido de calcio, a una dosis de hidróxido 2.600 ppm, los menores valores

Tabla 5. Resultados de la evaluación utilizando la mezcla del hidróxido de calcio y moringa con agua residual del café a 25.000 ppm.

Dosis		pH (unidades)		Absorbancia (unidades)		Turbidez (FTU)	
Hidróxido de calcio (ppm)	Moringa (ppm)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)
4.000	3.000	5,79	0,78	0,489	1,88	165	4,06
	4.000	5,68	0,82	0,463	1,62	160	3,39
	5.000	5,65	0,81	0,381	4,03	137	3,03
	5.500	5,50	1,15	0,160	3,04	69	7,79
	6.000	5,29	0,73	0,322	2,84	87	3,34
4.600	3.000	5,90	0,80	0,476	1,14	187	2,23
	4.000	5,84	0,83	0,367	2,41	158	2,83
	5.000	5,68	0,82	0,124	3,54	67	5,86
	5.500	5,60	0,75	0,192	2,76	91	6,33
	6.000	5,41	1,46	0,437	5,67	197	5,38

Datos promedio de diez réplicas. C.V.: Coeficiente de Variación

Tabla 6. Resultados de la evaluación del efecto coagulante de *J. curcas* sobre agua residual a 12.500 ppm.

Dosis		pH (unidades)		Absorbancia (unidades)		Turbidez (FTU)	
Hidróxido de calcio (ppm)	Jatropha (ppm)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)
0	500	3,58	2,23	1,755	4,20	698	10,95
	1.000	3,59	1,16	0,891	1,15	225	6,70
	1.500	3,55	1,93	0,516	2,65	129	3,04
	2.000	3,43	1,59	0,644	1,29	147	4,08
	2.500	3,29	0,57	0,873	0,69	284	7,26
2.600	500	5,70	0,74	0,891	1,81	284	5,74
	1.000	5,49	0,26	0,546	0,85	154	7,96
	1.500	5,30	0,28	0,545	1,35	151	7,77
	2.000	4,65	1,46	0,783	0,96	238	2,04
	2.500	3,42	1,00	1,267	0,69	726	1,44
3.000	500	5,89	0,82	0,955	1,63	314	2,93
	1.000	5,58	0,64	0,444	1,69	135	3,18
	1.500	5,47	0,63	0,434	1,77	135	2,14
	2.000	5,13	1,11	0,681	0,52	168	1,20
	2.500	4,96	1,33	0,794	0,68	178	2,38

Datos promedio de diez réplicas. C.V.: Coeficiente de Variación

promedio de absorbancia (0,546 y 0,545) se obtuvieron a una dosis de *J. curcas* entre 1.000 y 1.500 ppm, con valores promedio del pH en el agua residual tratada de 5,49 y 5,30, respectivamente.

En la evaluación, utilizando hidróxido de calcio a 3.000 ppm, se observó que los menores valores promedio de absorbancia (0,444 y 0,434) se obtienen a una dosis de *J. curcas* entre 1.000 y 1.500 ppm, con valores de pH del agua residual tratada de 5,58 y 5,47 respectivamente.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, es más apropiado aplicar el extracto de jatropha en una mezcla con hidróxido de calcio, debido al posible efecto floculante del material inerte, aún en suspensión, que acompaña al hidróxido de calcio utilizado, el cual ejerce un efecto floculante sobre el agua residual y hace que precipiten fácilmente los sólidos, además de ello se

forma un precipitado más denso que facilita su separación.

Tratamiento del agua residual a una concentración de 25.000 ppm como DQO.

Finalmente se evaluó el efecto del extracto de *J. curcas* sobre agua residual del beneficio del café a una concentración de 25.000 ppm, a las mismas condiciones descritas anteriormente para el agua residual a 12.500 ppm.

De acuerdo a los resultados obtenidos, cuando se utiliza *J. curcas* para el tratamiento de aguas residuales a una concentración de 25.000 ppm, a su pH original, los menores valores de absorbancia se presentaron a una dosis de 2.500 ppm (0,628 en promedio), con un pH promedio del agua residual tratada de 3,41.

Cuando se utiliza la mezcla de *J. curcas* con hidróxido de calcio a una concentración de 4.000 ppm, la dosis de *J. curcas* a la

Tabla 7. Resultados de la evaluación del efecto coagulante de *J. curcas* sobre agua residual del café a 25.000 ppm.

Dosis		pH (unidades)		Absorbancia (unidades)		Turbidez (FTU)	
Hidróxido de calcio (ppm)	Jatropha (ppm)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)	Promedio	C.V. (%)
0	1.500	3,57	0,70	0,987	0,24	291	0,97
	2.000	3,50	0,40	0,670	0,69	193	1,60
	2.500	3,41	0,57	0,628	0,46	186	1,29
	3.000	3,37	0,61	0,790	0,22	223	4,46
	3.500	3,28	0,60	0,867	0,55	249	2,01
4.000	1.500	5,39	0,29	0,887	0,50	183	2,63
	2.000	5,19	0,33	0,680	0,56	147	3,41
	2.500	5,11	0,40	0,549	0,53	110	8,43
	3.000	4,89	0,43	0,687	0,63	127	4,56
	3.500	4,63	0,89	0,803	1,28	205	2,86
4.600	1.500	5,59	0,60	1,003	0,66	280	2,36
	2.000	5,38	0,68	0,805	0,52	261	3,46
	2.500	5,25	0,66	0,704	1,14	198	3,52
	3.000	4,88	1,12	0,741	0,37	209	2,37
	3.500	4,51	1,17	0,829	0,40	234	2,53

Datos promedio de diez réplicas. C.V.: Coeficiente de Variación

cual se presentan los menores valores de absorbancia (0,549 en promedio) es de 2.500 ppm, con un valor final promedio de pH de 5,11. Para la mezcla utilizando 4.600 ppm de hidróxido de calcio, los menores valores de absorbancia (0,704 en promedio) se presentaron a la misma concentración de *J. curcas* que para 4.000 ppm.

En la Figura 3 se presenta el aspecto del agua residual después de realizar el tratamiento con *J. curcas* a las condiciones óptimas.

Evaluación del efecto del sulfato de aluminio (testigo), en el tratamiento del agua residual del café a diferentes condiciones

Para las evaluaciones con sulfato de aluminio se utilizaron las mismas condiciones que con los extractos naturales. En las evaluaciones realizadas con el agua proveniente del tratamiento primario (agua 12.500 ppm de DQO a la cual se le aplicó hidróxido de

calcio) se encontró que los menores valores de absorbancia (0,083 y 0,087 en promedio) se encuentran para una dosis entre 3.000 y 6.000 ppm, con unos valores promedio de pH del agua residual tratada entre 4,96 y 4,21.

En las pruebas de coagulación utilizando la mezcla de hidróxido de calcio y sulfato de aluminio, las menores absorbancias (entre 0,132 y 0,160) se presentan cuando se utilizó una dosis entre 400 y 800 ppm de sulfato de aluminio mezclada con hidróxido de calcio, en una concentración de 2.600 ppm.

De igual forma que con los coagulantes naturales, con el sulfato de aluminio se observó el efecto floculante del material inerte, aún en suspensión, que acompaña al hidróxido de calcio utilizado, el cual optimiza el tratamiento ya que se disminuyen la dosis utilizada en aproximadamente la quinta parte, comparadas con las empleadas para el agua residual proveniente del tratamiento primario.

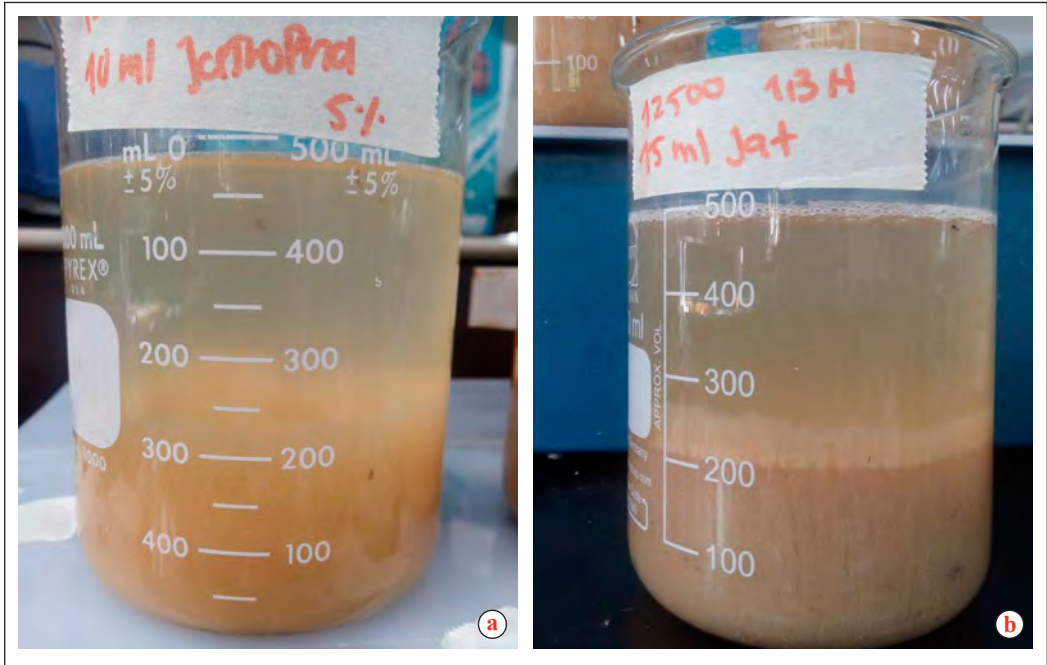


Figura 3. Aspecto del agua residual tratada con el extracto de *J. curcas*. **a.** Jatropha en agua residual a pH original; **b.** Mezcla de Jatropha con hidróxido de calcio.

Finalmente, se realizó la evaluación con agua residual a una concentración de 25.000 ppm de DQO, utilizando la mezcla de sulfato de aluminio con hidróxido de calcio, a una concentración de 4.600 ppm, encontrando que las dosis óptimas del coagulante químico para el agua residual, a una concentración de 25.000 ppm, están entre 1.000 y 1.500 ppm, ya que en este rango se presentaron los menores valores de absorbancia (0,217 a 0,202).

Caracterización fisicoquímica del agua residual tratada

Una vez realizadas las pruebas de coagulación con cada una de las especies vegetales, se seleccionó la dosis óptima de coagulante, de acuerdo a los valores de absorbancia del agua residual tratada y ésta se caracterizó en los

parámetros: Demanda Química de Oxígeno y Sólidos Suspendedos Totales (a la dosis óptima y a una dosis por encima y otra por debajo de la óptima). Las caracterizaciones también se realizaron al testigo (agua residual tratada con sulfato de aluminio), al agua residual proveniente del tratamiento primario y al agua residual sin tratamiento.

Resultados del tratamiento con agua residual a 12.500 ppm de DQO.

De acuerdo a los resultados de las caracterizaciones realizadas, se encontró que cuando se utilizó la semilla de *M. oleifera* seca y molida para tratar el agua proveniente del tratamiento primario se lograron remociones en la DQO entre 40,1% y 38,2% y en los SST entre 24,0% y 18,5%, con las mayores remociones cuando se utilizó una dosis de *M. oleifera* de 6.000 ppm. En cuanto al coagulante químico utilizado para

tratar el agua proveniente del tratamiento primario se obtuvo una remoción promedio de la DQO de un 57,8% y de los sólidos suspendidos del 23,0%.

Cuando se utilizó el polvo de *M. oleifera* mezclado con el hidróxido de calcio, para tratar las aguas residuales del beneficio del café, a una concentración de 12.500 ppm, las remociones promedio estuvieron entre 72,3% y 55,0% para la DQO y entre 93,5% y 83,0% para los SST. Las remociones mayores se presentaron para la mezcla de hidróxido de calcio, a una dosis de 2.600 ppm, con el extracto de *M. oleifera* (dosis de 4.000 ppm).

Según los resultados de la caracterización, cuando se realizó el tratamiento con el extracto de *J. curcas* al agua residual a una concentración de 12.500 ppm y a pH original, se obtuvieron remociones promedio en la DQO entre 78,0% y 67,7% y en los sólidos suspendidos entre 86,5% y 68,4%.

Cuando se realizó la mezcla de *J. curcas* con hidróxido de calcio, para tratar las aguas residuales a una concentración de 12.500 ppm, se obtuvieron remociones promedio de la DQO entre 79,2% y 70,1% y de sólidos suspendidos entre 71,5% y 88,6%, presentándose las remociones más altas cuando se utilizó una mezcla de hidróxido de calcio a una dosis de 3.000 ppm con el extracto de *J. curcas*, a una dosis de 1.500 ppm.

Resultados de tratamiento con agua residual a 25.000 ppm de DQO. En cuanto al tratamiento del agua residual del beneficio del café, a una concentración de 25.000 ppm de DQO, utilizando la semilla de *M. oleifera* mezclada con hidróxido de calcio, las remociones de la DQO estuvieron entre 77,3% y 68,5% y para los SST entre 92,2% y 82,7%. La dosis con la remoción más

alta estuvo constituida por 4.000 ppm de *M. oleifera* mezclada con 4.600 ppm de hidróxido de calcio.

Para el tratamiento del agua residual a pH original, con el extracto de *J. curcas* se presentaron remociones de DQO promedio entre 65,7% y 66,5% y de SST entre 85,4% y 84,9%.

Finalmente, cuando se realizó el tratamiento del agua residual a 25.000 ppm con la mezcla de hidróxido de calcio y el extracto de *J. curcas* se obtuvieron remociones promedio para la DQO entre 70,7% y 68,5% y para los SST entre 87,0% y 87,9%.

Las remociones promedio encontradas para el testigo (coagulante químico mezclado con el hidróxido de calcio) en el tratamiento del agua residual a 25.000 ppm de DQO fueron de 77,9% para la DQO y 88,2% para los SST.

Análisis estadístico de los resultados obtenidos en los tratamientos óptimos de acuerdo a la absorbancia

Se realizó un análisis de varianza con una confiabilidad del 95% (prueba Tukey) para las variables de interés: porcentaje de remoción de DQO y porcentaje de remoción de SST, para los tratamientos con menor absorbancia.

En las Tablas 8 a la 11 se presentan los tratamientos seleccionados y los resultados del análisis estadístico, tanto para el agua residual del café a concentraciones de DQO de 12.500 ppm como para 25.000 ppm.

Resultados de los tratamientos utilizando agua residual con una DQO de 12.500 ppm. De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Tabla 9), no se presentaron diferencias estadísticas en la

Tabla 8. Tratamientos evaluados para el agua residual del café a 12.500 ppm de DQO.

Tratamiento	
T1	Testigo (sulfato de aluminio)
T2	Moringa (4.000 ppm)+Hidróxido de calcio (2.600 ppm)
T3	Moringa (4.000 ppm)+Hidróxido de calcio (3.000 ppm)
T4	Agua residual a pH original +Jatropha (1.500 ppm)
T5	Jatropha (1.500 ppm)+Hidróxido de calcio (2.600 ppm)
T6	Jatropha (1.500 ppm)+Hidróxido de calcio (3.000 ppm)

Tabla 9. Resultados del análisis de varianza para el agua residual del café a 12.500 ppm de DQO.

DQO			SST		
Grupo Tukey	Remoción Promedio (%)	Tto.	Grupo Tukey	Remoción Promedio (%)	Tto.
A	78,77	T6	A	93,46	T2
A	78,37	T5	A	93,16	T1
A	77,91	T4	B	90,91	T3
B	71,99	T2	C	88,55	T6
B	71,91	T1	C	87,80	T5
C	64,30	T3	D	86,46	T4

Tabla 10. Tratamientos evaluados para el agua residual del café a 25.000 ppm de DQO.

Tratamiento	
T1	Testigo (sulfato de aluminio)
T2	Moringa (5.500 ppm)+Hidróxido de calcio (4.000 ppm)
T3	Moringa (5.000 ppm)+Hidróxido de calcio (4.600 ppm)
T4	Agua residual a pH original +Jatropha (2.500 ppm)
T5	Jatropha (2.500 ppm)+Hidróxido de calcio (4.000 ppm)
T6	Jatropha (2.500 ppm)+Hidróxido de calcio (4.600 ppm)

Tabla 11. Resultados del análisis de varianza para el agua residual del café a 25.000 ppm de DQO.

DQO			SST		
Grupo Tukey	Remoción Promedio (%)	Ttto.	Grupo Tukey	Remoción Promedio (%)	Ttto.
A	77,93	T1	A	92,17	T3
A	76,91	T3	B	91,17	T2
B	74,91	T2	C	88,50	T1
C	70,67	T5	D	87,65	T5
D	68,54	T6	D	87,33	T6
E	65,71	T4	E	84,86	T4

remoción de DQO para los tratamientos T6: *J. curcas* (1.500 ppm)+Hidróxido de calcio (3.000 ppm), remoción de DQO 78,77%; T5: *J. curcas* (1.500 ppm)+Hidróxido de calcio (2.600 ppm), remoción de DQO 78,37%; T4: *J. curcas* (1.500 ppm), remoción de DQO 77,91%. Estos tratamientos fueron estadísticamente diferentes del T2: *M. oleifera* (4.000 ppm)+Hidróxido de calcio (2.600 ppm) y del T1: Tratamiento Testigo con sulfato de aluminio; pero entre estos dos últimos tratamientos no hubo diferencias estadísticas, con un grado de confiabilidad del 95%.

Con estos resultados se establece como mejor tratamiento desde el punto de vista técnico (para el agua residual a 12.500 ppm) el T6: *J. curcas* (1.500 ppm)+Hidróxido de calcio (3.000 ppm), que si bien no muestra diferencias estadísticamente significativas con T5 y T4, mostró menores valores de absorbancia que T5 y obtener un precipitado más denso que el T4, permitiendo su separación final.

En cuanto a los resultados obtenidos para la remoción de SST (Tabla 9), no hubo diferencias estadísticas significativas, con un nivel de confiabilidad del 95%, para los tratamientos T2: *M. oleifera* (4.000 ppm)+Hidróxido de calcio (2.600 ppm), remoción de SST 93,46% y del T1: Tratamiento Testigo con sulfato de aluminio 93,16%, y los cuales fueron estadísticamente diferentes a los demás tratamientos evaluados, con remociones entre 86,46% (T4) y 90,91% (T3).

Resultados de los tratamientos utilizando agua residual con una DQO de 25.000 ppm.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza para los tratamientos con agua residual a una concentración de 25.000 ppm (Tabla 11), no hubo diferencias estadísticas, con un grado de confiabilidad del 95%, en la remoción de DQO para

los tratamientos T1: Tratamiento Testigo con sulfato de aluminio, remoción de DQO 77,93% y T3: *M. oleifera* (5.000 ppm)+Hidróxido de calcio (4.600 ppm), remoción de DQO 76,91%; los cuales fueron estadísticamente diferentes a los demás tratamientos evaluados.

Se establece como mejor tratamiento desde el punto de vista técnico (para el agua residual a 25.000 ppm) el T3: *M. oleifera* (5.000 ppm)+Hidróxido de calcio (4.600 ppm). Con éste se obtuvo la remoción más alta en términos de DQO (76,91%) y no presentó diferencias significativas estadísticamente con el tratamiento testigo.

En cuanto a los resultados obtenidos para la remoción de SST (Tabla 11), se observan diferencias estadísticas, con un nivel de significancia del 95%, para los diferentes tratamientos evaluados, excepto entre T5: *J. curcas* (2.500 ppm)+Hidróxido de calcio (4.000 ppm), remoción de SST 87,65% y T6: *J. curcas* (2.500 ppm)+Hidróxido de calcio (4.600 ppm), remoción de SST 87,33%.

Gutiérrez y Mera (4) reportan dosis de moringa para el tratamiento de aguas residuales del café de 4 g en 600 mL (6.600 ppm), con remociones promedio en parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de un 80,9%.

En este estudio puede concluirse que:

La mezcla de hidróxido de calcio con los extractos naturales hace más eficientes los tratamientos, debido a que permite acondicionar el pH a valores óptimos para el funcionamiento del coagulante. Adicionalmente, el material suspendido de la cal, aún sin disolver, favorece el proceso de floculación, logrando mayores eficiencias en el tratamiento de las aguas residuales.

El coagulante extraído de la semilla de *M. oleifera* no tiene algún efecto sobre las aguas residuales del café cuando éstas se encuentran a pH ácido (pH original del agua residual del café).

Para el caso de *J. curcas* debe aplicarse el extracto líquido después de la extracción de la grasa y el compuesto coagulante, debido a que cuando se aplica el polvo seco y molido éste no se diluye en el agua residual, por lo tanto, no se presenta algún cambio en las características del agua.

Para el tratamiento del agua residual del beneficio del café, a una concentración de 12.500 ppm, se encontró que con la mezcla de hidróxido de calcio con la semilla de *M. oleifera* seca y molida, las dosis óptimas para el tratamiento son 2.600 ppm (2,6 g.L⁻¹ de agua residual generada) de hidróxido de calcio y 4.000 ppm (4 g.L⁻¹ de agua residual generada) de *M. oleifera*. Para la mezcla de *J. curcas* con hidróxido de calcio, las condiciones óptimas se presentaron cuando se aplicó una dosis de 3.000 ppm (3 g.L⁻¹ de agua residual generada) de hidróxido de calcio mezclado con *J. curcas* a una concentración de 1.500 ppm (1,5 g.L⁻¹ de agua residual generada).

Para el tratamiento del agua residual del beneficio del café, a una concentración de 25.000 ppm como DQO, la dosis óptima es 4.600 ppm de hidróxido de calcio (4,6 g.L⁻¹ de agua residual generada) y 5.000 ppm (5 g.L⁻¹ de agua residual generada) de semilla de *M. oleifera* seca y molida. Para la mezcla hidróxido y *J. curcas* la dosis óptima encontrada fue de 4.000 ppm (4 g.L⁻¹ de agua residual generada) de hidróxido y 2.500 ppm (2,5 g.L⁻¹ de agua residual generada) de *J. curcas*.

LITERATURA CITADA

1. ABIDIN, Z.Z.; SHAMSUDIN, N.S.M.; MADEHI, N.; SOBRI, S. Optimization of a method to extract the active coagulant agent from *Jatropha curcas* seeds for use in turbidity removal. *Industrial crops and products* 41:319-323. 2013.
2. CENICAFÉ. Informe anual. Manizales : Cenicafe, 2016. 132 p.
3. GARCÍA F., B. Metodología de extracción *in situ* de coagulantes naturales para la clarificación de agua superficial aplicación en países en vías de desarrollo. Valencia : Universidad Politécnica de Valencia : Instituto de seguridad industrial, radiofísica y medioambiental, 2007. 121 p.
4. GUTIÉRREZ S., M.L.; MERA A., C.F. Evaluación del efecto coagulante y floculante de la semilla de Moringa (*Moringa oleifera*) como alternativa de manejo de aguas residuales en sistemas integrados de producción agropecuaria. Popayán : Universidad del Cauca, 2014. 90 p.
5. HERNÁNDEZ M., J.L.; CASTRO V., A.F. Determinación de la eficiencia de la semilla de *Moringa oleifera* (mo) utilizada como sustancia coagulante en el proceso de coagulación/floculación de las aguas residuales de la central de sacrificio de la ciudad de Popayán, departamento del cauca. Popayán :, 2014. 103 p.
6. OKUDA, T.; BAES, A.U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. *Water research* 35(2):405-410. 2001.
7. PRITCHARD, M.; CRAVEN, T.; MKANDAWIRE, T.; EDMONDSON, A.S.; O'NEILL, J.G. A comparison between *Moringa oleifera* and chemical coagulants in the purification of drinking water: An alternative sustainable solution for developing countries. *Physics and chemistry of the earth* 35(13):798-805. 2010.
8. YIN, C.Y. Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. *Process biochemistry* 45(9):1437-1444. 2010.
9. YONGABI, K.A. Studies on the potential use of medicinal plants and macrofungi (lower plants) in water and wastewater purification. Bauchi : International organization for biotechnology, 2004.
10. VARGAS C., M.; ROMERO E., L.G. Aprovechamiento de algunos materiales en el desarrollo de coagulantes y floculantes para el tratamiento de aguas en Costa Rica. *Tecnología en marcha* 19(4):37-41. 2006.
11. ZAMBRANO F., D.A.; RODRÍGUEZ V., N. Sistemas para el tratamiento de aguas mieles: Investigación aplicada en beneficio de los productores cafeteros. Chinchiná : Cenicafe, 2008. 19 p.

TÉCNICAS DE VISIÓN ARTIFICIAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DOS DEFECTOS DEL CAFÉ LAVADO

Juan Mateo Castrillón Cuervo*; Juan Rodrigo Sanz Uribe**; Paula Jimena Ramos Giraldo***

CASTRILLÓN C., J.M.; SANZ U., J.R.; RAMOS G., P.J. Técnicas de visión artificial para la identificación de dos defectos del café lavado. Revista Cenicafé 69(1):83-90. 2018

La clasificación de café ayuda a obtener una mejor calidad de la bebida y un mayor precio en el mercado. Al igual que a simple vista, a partir de un procesamiento digital de imágenes se observaron diferencias apreciables entre los granos sanos de café lavado y los que tienen los defectos “fermento” e “inmaduro”. El café lavado cuando tiene el defecto fermento muy avanzado presenta una coloración más oscura del pergamino mientras que los granos de café lavado inmaduros presentan una coloración verdosa. En esta investigación se adquirieron imágenes digitales de granos sanos y defectuosos, bajo condiciones controladas de iluminación y fondo. Se desarrolló un algoritmo de segmentación de los granos y se estudiaron diferentes espacios de color, con el fin de determinar las mayores diferencias entre las tres clases de granos (sanos, fermento e inmaduro). La mayor dispersión entre clases se generó en el plano B-G de la representación de color RGB, donde se aplicaron tres clasificadores: lineal, bayesiano y K-vecinos más cercanos (K-NN). La eficacia promedio de los clasificadores fue 88,4%, 79,3% y 88,1%, respectivamente. Por el desempeño y bajo costo computacional fue seleccionado el clasificador lineal, en cuya validación, el porcentaje de correcta identificación fue de 91,4%. Los resultados de esta investigación tienen el potencial de ser usados en una máquina electrónica para la separación de los granos con estos defectos.

Palabras clave: Imágenes digitales, clasificación electrónica, clasificación de café, algoritmos.

ARTIFICIAL VISION TECHNIQUES TO IDENTIFY TWO DEFECTS OF WASHED COFFEE

Coffee classification helps to obtain better cup quality and higher prices in the market. As well as with the naked eye, clear differences among healthy, sour and immature washed coffee beans, were observed with processed digital images. When washed coffee has a very advanced sour defect, the color of its husk is darker while immature washed coffee beans have a greenish coloration. In this study, digital images of healthy and defective coffee beans were obtained under controlled lighting and background conditions. A segmenting algorithm of the grains was developed and several color spaces were studied in order to find the greatest differences among the three classes: healthy, fermented, and immature beans. The greatest dispersion was observed in the B-G plane of the RGB color representation, in which three classifiers, namely, linear, Bayesian and K-nearest neighbors (K-NN) were applied. The mean efficacies of the classifiers were 88.4%, 79.3% and 88.1%, respectively. Due to good performance and low computational cost, the linear classifier, which validation had a right identification percentage of 91.4%, was chosen. The results of this research can be used in an electronic machine to separate those defective beans.

Keywords: Digital images, electronic classification, coffee classification, algorithms.

*Asistente de Investigación (hasta 2015), **Investigador Científico III, ***Investigador Científico I, respectivamente. Disciplina de Poscosecha, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

Las exigencias de alta calidad del mercado requieren tecnologías que realicen controles cada vez más precisos y rigurosos. En café existen dos defectos que reducen de forma significativa el valor del grano: El primero, es el grano “inmaduro” proveniente del café pintón o verde, el cual genera astringencia o acidez indeseable en la taza, y segundo es el “fermento”, atribuido a malas prácticas en el proceso de beneficio, particularmente en la etapa de fermentación del mucílago, donde el café tras un largo período de sobrefermentación, presenta olores, sabores y aspecto propios de este defecto. Un alto contenido de café con fermento en una muestra, causa un efecto negativo sobre los atributos de la bebida (11). Los defectos mencionados presentan características que son visiblemente apreciables después de lavar el café para remover su mucílago degradado; el café inmaduro presenta una coloración verdosa que desaparece cuando el café empieza su proceso de secado y el café con fermento presenta una coloración del pergamino más oscura, en comparación con el café sano. El propósito de este trabajo es identificar los cambios de tonalidad aplicando técnicas de visión artificial, a través de algoritmos que diferencien los defectos en el café lavado. Estos algoritmos serán implementados en una máquina autónoma que logre separar granos defectuosos de los sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Visión Artificial de la Disciplina de Poscosecha, del Centro Nacional de Investigaciones de Café-Cenicafé. El procesamiento de las imágenes se realizó en dos herramientas computacionales: un compilador de lenguaje C++ en conjunto con la librería open CV 2.9 (2) y Scilab, de código abierto y libre distribución. La metodología de la investigación estuvo constituida por tres

fases: I) Caracterización inicial de los granos y adquisición de la base de datos, II) Desarrollo de algoritmos que logren separar regiones de interés en los granos, y III) Evaluación de los clasificadores para identificar dichos defectos.

Fase I): Se seleccionaron manualmente 100 granos de café Variedad Castillo®, en cada clase: i) Sanos, ii) Defecto fermento y iii) Defecto inmaduro, provenientes de la Estación Experimental Naranjal y procesados en el beneficiadero de semilla de Cenicafé. Un grano de café posee dos superficies: una cara con forma convexa y una cara plana ensanchada con una hendidura, ambas fueron analizadas, disponiendo los granos en una campana de inspección. Dicha campana se compone de una iluminación controlada tipo LED (6500K), con tonalidad neutra, 24 W de potencia y patrón de radiación Lambertiano, además de una cámara industrial de alta velocidad, marca Emergent HS-2000C, con capacidad de tomar hasta 338 fps (*frames per second*, por sus siglas en inglés) a una resolución de 2 MP, ubicada en la parte superior.

Para garantizar una correcta segmentación digital (13) de los granos (separación de la información digital correspondiente al fondo y a los granos), se utilizó un fondo azul cian (*Red: 0, Green: 116 y Blue: 238*), utilizado en un estudio anterior (12). Dicho fondo permite la segmentación de la totalidad de los granos defectuosos o sanos presentes en la escena. Para esta segmentación se utilizó la componente de color *Cb* del espacio de representación YCbCr (por sus siglas en inglés: *Luminance, Chroma difference Blue y Chroma difference Red*) con una conversión desde el espacio de color RGB (por sus siglas en inglés: *Red, Green y Blue*) como se muestra en la Ecuación <1> (7).

$$\begin{bmatrix} Y \\ Cb \\ Cr \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 16 \\ 128 \\ 128 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 65,48 & 128,55 & 24,96 \\ -37,79 & -74,20 & 112 \\ 112 & -93,78 & -18,21 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} <1>$$

Las imágenes con los 300 granos a caracterizar, se analizaron digitalmente, para encontrar las regiones que mostraban mayores cambios en su nivel de intensidad en el espacio de color RGB, como sugerían trabajos anteriores (9, 10); también se observó la forma de los granos (3), estudiando la viabilidad de un ajuste matemático, que permitiera calcular los parámetros de dicha figura para desplazarlos y segmentar las regiones de interés dentro de la misma.

Posteriormente, se seleccionó la cara del grano con mayores cambios de tonalidad y se adquirieron imágenes de 3.000 granos con defecto fermento e inmaduro, y 800 granos sanos que sirvieron de control, construyendo así la base de datos de entrenamiento y validación. Los granos con defecto fermento, previamente se sometieron a períodos de sobrefermentación sin agua, entre 38 y 114 h, para determinar el tiempo promedio desde el cual es apreciable el cambio de tonalidad de los granos dentro del espectro visible.

Fase II): Se construyeron e implementaron los algoritmos de segmentación y extracción de información en los lenguajes de programación ya mencionados. Para segmentar las regiones de interés dentro de los granos, se ajustó una elipse a los contornos de cada grano encontrado. Por medio de una regresión lineal (1, 5) se estimaron los valores iniciales de la elipse (coordenadas del centroide, eje mayor, eje menor y ángulo de inclinación) y, posteriormente, mediante regresión no lineal de mínimos cuadrados, se aproximó la elipse que mejor se ajustó al conjunto de datos (6). Con el centro de la elipse, la longitud de los ejes de cada contorno elíptico y la imagen binaria de la escena adquirida, se logró segmentar cualquier región dentro de un grano. Finalmente, se calculó la media aritmética de las regiones de interés (ROI) segmentadas, en los espacios de color RGB,

HSV y La^*b^* , teniendo como resultado nueve características de cada ROI.

Representando los datos en un plano cartesiano, se buscó la mayor separación entre clases, determinando la combinación de características XY más efectiva para aplicar los clasificadores

Fase III): A partir de la ROI y el par de componentes de color más representativas, se procedió a la implementación de tres tipos de clasificadores: lineal, Bayesiano y K -Vecinos más Cercanos (K -Nearest Neighbors, por sus siglas en inglés).

El clasificador lineal separa las clases dentro de una nube de puntos, a partir de una expresión lineal sobre el plano cartesiano, posee un costo computacional mínimo, con una alta precisión de clasificación, aunque en ocasiones puede tener una sensibilidad alta cuando la fuente de extracción de las características es propensa al ruido o cambios repentinos debido a condiciones externas (8). El clasificador Bayesiano modela funciones de densidad con distribuciones normales, tomando la desviación estándar y la media de un grupo de datos iniciales como conjunto de entrenamiento, y estima la probabilidad de que un nuevo dato pertenezca a una de las clases de entrenamiento, por medio de su probabilidad *a posteriori* para cada clase, basándose en el teorema de Bayes y en la probabilidad condicional (14). El clasificador K -NN (k -vecinos más cercanos) en cambio, clasifica los datos de acuerdo a la ubicación espacial de un conjunto de datos previamente clasificado y etiquetado, calculando la distancia euclidiana de un nuevo dato hasta cada uno de los puntos de entrenamiento dados. El dato de prueba pertenecerá a la clase a la que más cerca se encuentre; puede ser extendido a varias clases cercanas (vecinos) manteniendo k

impar (14), sin embargo, para este estudio solo se trabajó con k igual a uno.

Para el entrenamiento de todos los clasificadores se utilizaron 30 muestras de 200 granos de café y para la validación se utilizó la información de los 1.400 granos de café restantes. Se utilizó la eficacia (Ecuación <2>), basada en la tabla de contingencia o confusión (4), como métrica para determinar el desempeño de cada clasificador y herramienta computacional.

$$E = \frac{N_{ss} + N_{dd}}{N} \quad <2>$$

Donde:

E = eficacia

N_{ss} = número de granos sanos identificados como sanos

N_{dd} = número de granos defectuosos identificados como defectuosos

N = número total de granos analizados

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La iluminación controlada permite eliminar perturbaciones externas en la escena, como sombras o cambios de intensidad en la luz, originando datos completos y ordenados de los contornos de los granos de café, lo que se traduce en ajustes precisos al aplicar el algoritmo seleccionado para el ajuste elíptico (Figura 1).

Los defectos estudiados en este experimento mostraron alteraciones de coloración del pergamino del café¹ y la almendra en el interior del grano, particularmente a lo largo de la hendidura y en los dos extremos o lóbulos que ésta misma separa. Dichas alteraciones presentan cambios de color hueso oscuro en granos sanos, por tonos

verdes para granos inmaduros y coloraciones marrón oscuro para granos tipo fermento. Los cambios de coloración se hacen más evidentes en los lóbulos de los granos y la hendidura. En la cara convexa solamente se observaron diferencias de tonalidad para granos inmaduros, razón por la cual se optó por analizar únicamente las superficies planas de los granos.

Se utilizaron desplazamientos de los ejes de la elipse ajustada para segmentar dichas regiones, trasladando el eje mayor a través del eje menor un 30%, se segmentaron los lóbulos del grano, y realizando una negación lógica a la imagen binaria pudo segmentarse la hendidura (Figura 2).

Para determinar la ROI a analizar se midió el cambio de coloración de las componentes de color RGB, HSV y La^*b^* , en las regiones segmentadas, para los tres tipos de granos de café. Tanto en los lóbulos como en la hendidura se presentan cambios en cada una de las componentes de color mencionadas, sin embargo, el rango dinámico de dichas variables es mayor para la zona de los lóbulos, generando mayores dispersiones al momento de relacionar las características de color en un plano cartesiano. En la Figura 3 se muestra el rango de las componentes (RGB y HSV) de color, tanto en los lóbulos como en la hendidura, para los granos en todos los estados, por medio de un análisis de intervalos de confianza con un nivel de significancia del 95%.

El espacio de color La^*b^* no mostró diferenciación en la componente a^* , y debido a que la componente L es altamente susceptible a los cambios de luz externa, solo se observaba diferenciación en la componente

¹ Luego de fermentar y remover el mucílago del café despulpado, es posible apreciar los defectos de la almendra a través de la capa del grano conocida como pergamino, el cual al estar húmedo es translúcido.

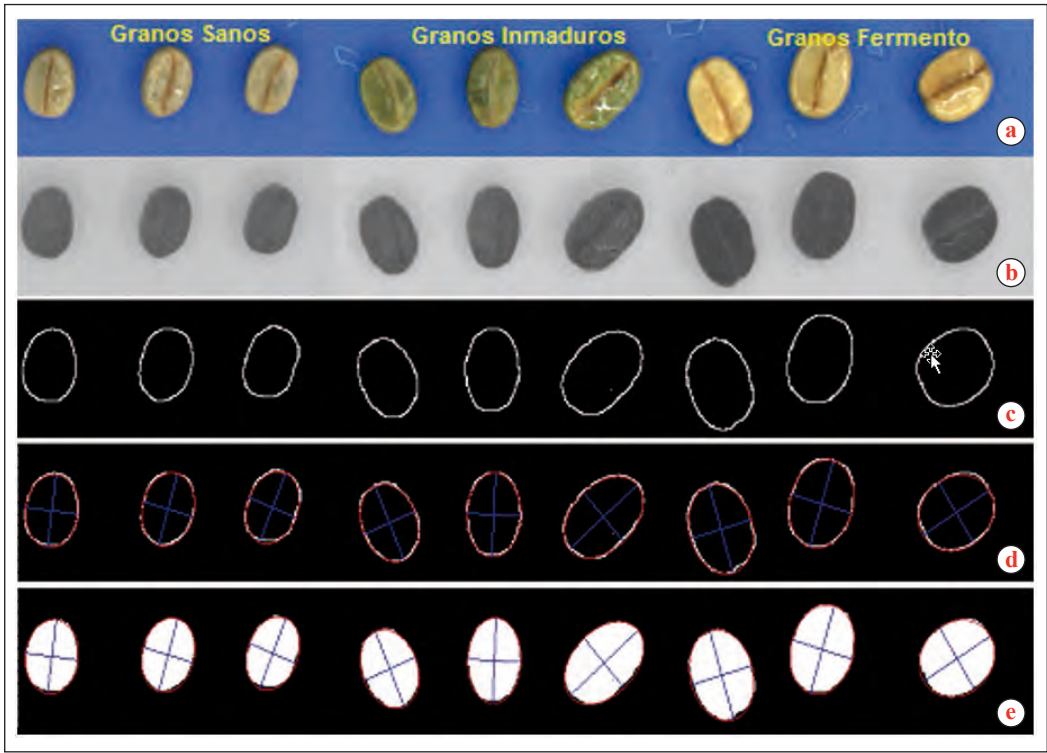


Figura 1. a. Imagen con granos sanos, inmaduros y tipo fermento; b. Representación de color Cb; c. Contornos de la imagen; d. Ajuste elíptico (rojo) con sus respectivos ejes superpuestos sobre los contornos (blanco); e. Imagen binaria con ajuste elíptico y ejes correspondientes.

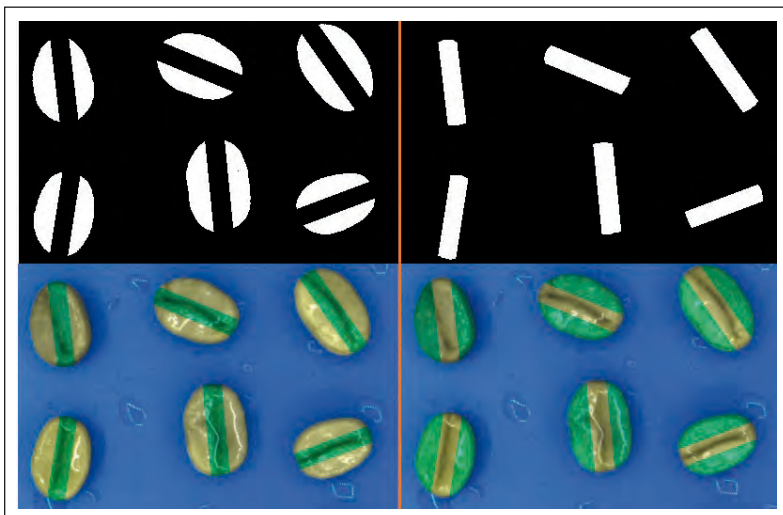


Figura 2. Segmentación de lóbulos o extremos (izq.) y de la hendidura de los granos de café en su cara plana (der.).

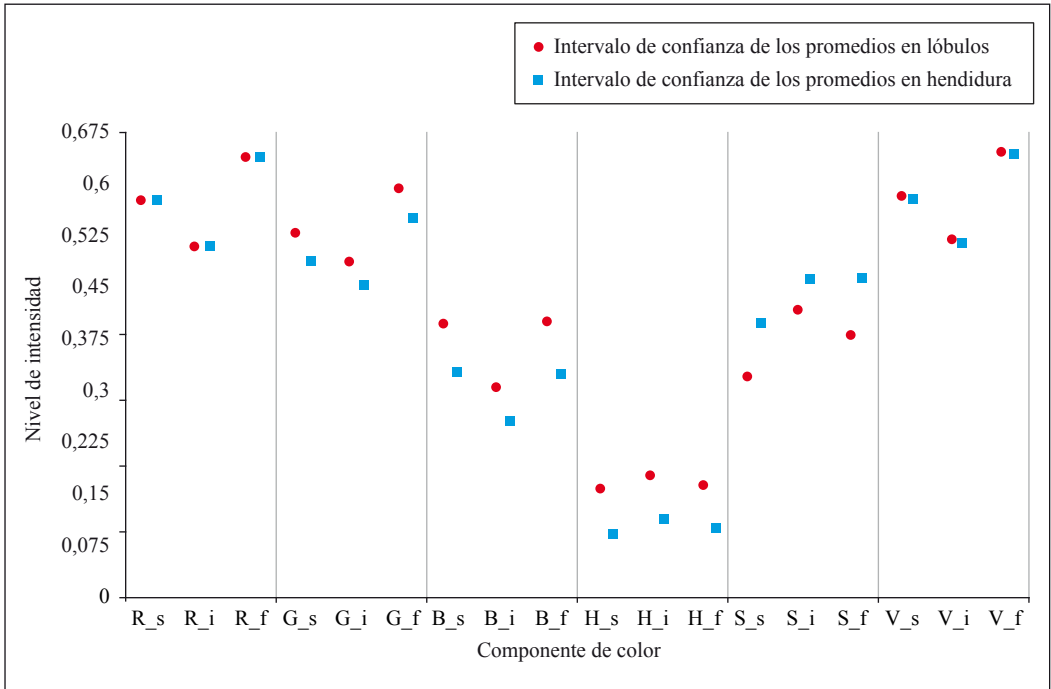


Figura 3. Intervalos de confianza al 95% para las características seleccionadas en los espacios de color RGB y HSV.

b*, por lo que se descartó este espacio para las clasificaciones posteriores. La variable que muestra mayor diferenciación de promedios entre los granos sanos e inmaduros es la componente de color S del espacio HSV, sin embargo, es sujeta a brillos ocasionados por las gotas de agua presentes en el café lavado, la segunda componente con mayor diferencia fue la B del espacio RGB, con valor de 0,092, mientras que la mayor diferencia entre sanos y fermento se presenta en G del mismo espacio de color con un valor de 0,075; estos valores equivalen a 17 y 23 niveles de intensidad, respectivamente, para imágenes de 8 bits de profundidad.

Con el promedio de las componentes B y G de la ROI segmentada sobre los lóbulos, se creó el gráfico de dispersión de la Figura 4, donde se aprecian tres nubes de puntos,

correspondientes a la relación GB de los granos sanos, fermento e inmaduros.

La eficacia promedio de identificación de los clasificadores, al discriminar entre granos sanos e inmaduros es de 93,44%, y la clasificación entre granos sanos y con defecto fermento es de 87,31% (Tabla 1). Para el clasificador lineal se varió la pendiente de la recta desde 0,60 hasta 0,75. La eficacia mostrada se obtuvo con pendiente igual a 0,71.

Tabla 1. Eficacias de los clasificadores evaluados.

	Identificación	Tipo de clasificador		
		Lineal	Bayes	KNN
Eficacia (%)	Inmaduros	93,44	85,87	92,14
	Fermento	87,31	71,33	84,06
	Combinados	90,43	70,69	85,87

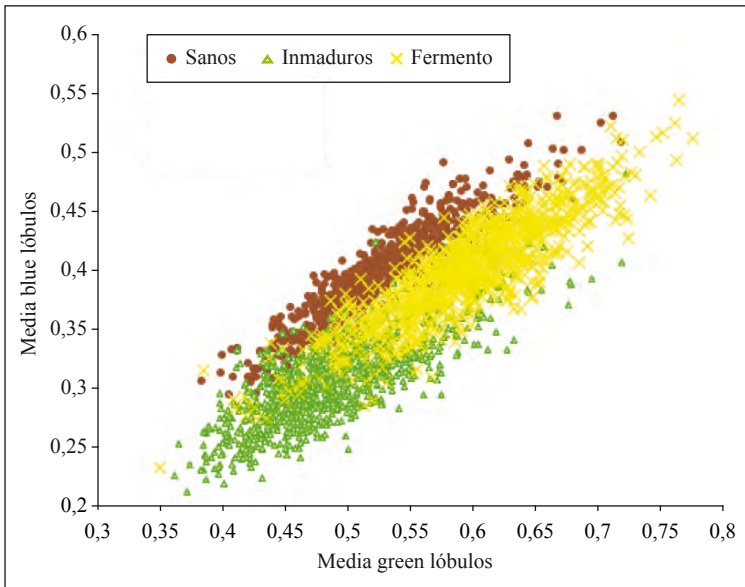


Figura 4. Distribución de clases sano, inmaduro y fermento en el plano BG.

Se realizaron evaluaciones variando la cantidad de puntos de entrenamiento entre 100 y 400, tratando de encontrar mejores eficacias, pero éstas variaron desde una centésima de decimal hasta apenas una unidad, en comparación con los valores obtenidos al entrenar con 200 datos, razón por la cual los demás análisis solamente se realizaron con 200 datos de entrenamiento. Al evaluar los clasificadores para discriminar entre sanos y afectados, se obtuvieron las eficacias resaltadas al final de la Tabla 1. El bajo desempeño del clasificador de Bayes está relacionado con la cercanía entre clases, es decir, hay traslapes entre las curvas normales, ya que el promedio de la pendiente de la recta desde el origen hasta los puntos de la nube de sanos fue de 0,752 y para la recta de defectuosos de 0,650, con desviación estándar de 0,032 y 0,048, respectivamente.

Posteriormente, se validó la eficacia de clasificación con 200 nuevos granos de cada tipo, teniendo como resultado una

eficacia promedio de 91,4%. Las evaluaciones realizadas muestran que el clasificador con mejor desempeño para la aplicación planteada es el lineal; sin embargo, depende en gran medida de condiciones externas, las cuales son inherentes a cualquier sistema de adquisición, sin importar la disposición del sistema de iluminación controlada, para solucionar esto, se están adelantando trabajos para utilizar un clasificador lineal con pendiente dinámica, donde la pendiente que separa los granos defectuosos de los sanos se ajuste automáticamente dependiendo del promedio, desviación estándar y otras medidas estadísticas tomadas a todos los píxeles que conforman cada imagen.

En este estudio puede concluirse que se cuenta con un algoritmo, basado en las componentes de color G y B, que tiene la capacidad de identificar granos de café lavado con los defectos fermento e inmaduro, de los granos sanos, con una eficacia promedio de 91,4%, que se considera aceptable para ser usado en desarrollos posteriores.

El clasificador lineal demostró tener mayores eficacias que clasificadores más elaborados, como son el Bayesiano y el k-vecinos más cercanos. Esto muestra robustez del proceso y el costo computacional de la implementación es relativamente bajo, si se compara con otro tipo de clasificadores, lo que posibilita generar análisis en tiempo real.

En el análisis descriptivo por intervalos de confianza arrojó una dispersión de la muestra del 0,3%, lo que permite concluir que el hardware usado para capturar las escenas, garantiza alta estabilidad con respecto a alteraciones externas, dando a la información resultante en la imagen digital y al sistema de adquisición una alta confiabilidad de los datos. Al mismo tiempo, esto permitió obtener contornos completos y con ruido despreciable, para segmentar cualquier región dentro del grano, a partir de los parámetros de la elipse calculada, con un mínimo requerimiento computacional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los investigadores y auxiliares de la Disciplina de Poscosecha de Cenicafé, al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – Colciencias por la cofinanciación del proyecto “Visión artificial para la clasificación automática de café pergamino húmedo”, código 2251-569-33151, contrato 2013-0151.

LITERATURA CITADA

- BOOKSTEIN, F.L. Fitting conic sections to scattered data. *Computer graphics and image processing* 9(1):56-71. 1979.
- BRADSKI, G.; KAEHLER, A. *Learning open CV*. Beijing : O'Reilly media, 2008. 556 p.
- COSTA, L.D.F.D.; CESAR, R.M. JR. *Shape analysis and classification: Theory and practice*. Florida : CRC press, 2000. 680 p.
- FAWCETT, T. An introduction to ROC analysis. *Pattern recognition letters* 27(8):861-874. 2006.
- FITZGIBBON, A.W.; FISHER, R.B. *A buyer's guide to conic fitting*. Birmingham : British machine vision conference, 1995.
- GANDER, W.; GOLUB, G.H.; STREBEL, R. Least-squares fitting of circles and ellipses. *BIT numerical mathematics* 34(4):558-578. 1994.
- GONZÁLEZ, R.C.; WOODS, R.E.; EDDINS, S.L. *Color image processing*. p. 329. En: GONZALEZ, R.C.; WOODS, R.E.; EDDINS, S.L. *Digital image processing using MATLAB*. (s.l.) : Gatesmark publishing, 2009. 827 p.
- HERBRICH, R. *Learning kernel classifiers: Theory and algorithms*. Massachusetts : MIT press, 2002.
- RAMOS G., P.J.; SANZ U., J.R.; ESTRADA E., J.H. Sistema opto-electrónico para la identificación de frutos de café por estados de maduración. *Cenicafé* 62(1):87-99. 2011.
- RAMOS G., P.J.; SANZ U., J.R.; OLIVEROS T., C.E. Identificación y clasificación de frutos de café en tiempo real, a través de la medición de color. *Cenicafé* 61(4):315-326. 2014.
- ROA M., G.; OLIVEROS T., C.E.; ÁLVAREZ G., J.; RAMÍREZ G., C.A.; SANZ U., J.R.; DÁVILA A., M.T.; ÁLVAREZ H., J.R.; ZAMBRANO F., D.A.; PUERTA Q., G.I.; RODRÍGUEZ V., N. Apéndice B. p. 266-271. En: CENICAFÉ. *Beneficio ecológico de café*. Chinchiná : CENICAFÉ, 1999.
- SANZ U., J.R., RAMOS G., P.J.; CASTRILLÓN C., J.M.; FERRIER, N. Characterization of defective washed coffee beans for electronic sorting. *Saint Petersburg : Proceedings of the international Scientific*, 2015.
- SZELISKI, R. Segmentation. En: SZELISKI, R. *Computer vision: Algorithms and applications*. New York : Springer, 2010. 812 p.
- THEODORIDIS, S.; KOUTROUMBAS, K. *Pattern recognition*. San Diego : Academic press, 2003. 689 p.

VALORACIÓN DEL CAMBIO DE APTITUD DEL CULTIVO DE CAFÉ EN COLOMBIA, POR VARIACIÓN EN LOS ESCENARIOS CLIMÁTICOS FUTUROS

Juan Carlos García López*; Peter Läderach**; Húver Posada Suárez***

GARCÍA L., J.C.; LÄDERACH, P.; POSADA S., H.E. Valoración del cambio de aptitud del cultivo de café en Colombia, por variación en los escenarios climáticos futuros. Revista Cenicafé 69(1):91-111. 2018

Este estudio tiene como objetivo identificar cómo las regiones cafeteras colombianas estarían cambiando su aptitud actual en el marco del escenario A2 2030s y 2050s, planteados en el cuarto informe del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático-IPCC. A partir de la información climática actual y futura se construyeron bioindicadores climáticos que constituyeron los predictores de la modelación en Maxent. La distribución de probabilidad de Maxent se definió en la zona cafetera colombiana, la aptitud climática correspondió al nivel de presencia de ciertas características climáticas que permiten satisfactoriamente el cultivo de café. La tendencia es a incrementar la expresión de Temperatura Media hacia el futuro, la mínima cantidad de incremento promedio esperada es 0,8 y 1,6°C para 2030 y 2050, respectivamente. Mayores cambios se observarán en aquellas áreas ubicadas en el Norte de Colombia mientras que las zonas con valores de cambio más reducidos corresponden al Sur de Colombia. El cambio en precipitación muestra la tendencia en la zona Caribe y Santanderes a disminuir entre 1,6% y 3,5% (30 a 64 mm). Varias zonas de menor aptitud en el escenario actual y futuro se observan en las estribaciones de las grandes montañas, con influencia de grandes cuencas hidrográficas como los ríos Magdalena, Cauca, Catatumbo, Sogamoso, Guaviare, Meta y Patía.

Palabras clave: *Coffea arabica*, Zona Cafetera Colombiana, aptitud actual.

APTITUDE CHANGE ASSESSMENT OF COFFEE CULTIVATION IN COLOMBIA BY VARIATION IN FUTURE CLIMATE SCENARIOS

This study aims to identify how Colombian coffee regions would be changing their current aptitude under the A2 2030s and 2050s scenarios, reported in the Fourth Assessment Report of IPCC of the Intergovernmental Panel on Climate Change-IPCC. Climatic bioindicators, which were the predictors of the Maxent modeling were made using current and future climate data. The Maxent probability distribution was defined in the Colombian coffee region, the climate aptitude corresponded to the level of presence of certain climatic characteristics that satisfactorily allow the cultivation of coffee. The tendency is to increase the expression of Average Temperature towards the future, the minimum amount of expected average increase is 0.8 and 1.6 ° C for 2030 and 2050, respectively. Major changes were identified in the North of Colombia, while areas with smaller change values correspond to the South of Colombia. The change in precipitation shows that the Caribbean and the Santander areas have a tendency to decrease from 1.6% to 3.5% (30 to 64 mm). Several areas of lower aptitude in the current and future scenario are observed in the foothills of the great mountains, with the influence of large river basins such as the Magdalena, Cauca, Catatumbo, Sogamoso, Guaviare, Meta and Patía rivers.

Keywords: *Coffea arabica*, Colombian coffee regions, current aptitude.

*Investigador Científico II, Disciplina de Agroclimatología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

**Decision and Policy Analysis (DAPA), Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia.

***Gerencia Técnica, Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Bogotá, Colombia.

Los informes cuarto y quinto del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático IPCC (por sus siglas en inglés, *Intergovernmental Panel on Climate Change*), concluyeron que no existen dudas de que la humanidad se afectará por el cambio climático (23, 24), con aumentos más marcados en la temperatura hacia latitudes septentrionales altas. En el quinto informe del IPCC (24) se advierte cómo cada uno de los tres últimos decenios han sido sucesivamente más cálidos en la superficie de la Tierra que cualquier decenio anterior, desde 1850.

De acuerdo con la segunda comunicación nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático (20), para Colombia el análisis de tendencia de aumento de temperatura evidencia una tasa de calentamiento promedio de 0,13°C por década en los últimos 50 años, y una tasa de disminución de la precipitación entre -3,1 y -4,0 mm.año⁻¹. Por su parte, los resultados según la tercera comunicación Nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático (19) muestran cómo los aumentos de temperatura y el comportamiento de la precipitación no será el mismo en todas las regiones, con tendencia al incremento gradual de temperatura esperado de 2,14°C hacia 2070, y la disminución de la precipitación en departamentos del Norte de Colombia y aumento de las lluvias en el Centro, Sur y Occidente del país.

En los últimos años, Colombia ha registrado eventos críticos relacionados con la ocurrencia de los eventos La Niña y El Niño, el primero relacionado con incremento de la pluviosidad entre los años 2007 y 2011, recrudescida entre los años 2008 y 2010, la cual no sólo afectó a la población sino a los cultivos, entre ellos el café. En este último se generaron condiciones favorables

para el desarrollo de la roya del café, que registró niveles de infección del 44% (42), lo cual disminuyó la productividad, que en el año 2011 se situó en 7.654 millones de sacos (43). El segundo, el evento El Niño, que se registró entre los años 2015 y 2016, considerado el de mayor efecto climático en término de déficit de lluvias para la región Andina y Caribe, y el segundo más intenso desde 1950. El 80% de las zonas en la región Andina tuvieron anomalías en los valores de temperatura, superiores a los 2,5°C (21). La caficultura colombiana sufrió los efectos de dicho fenómeno, que para el segundo semestre del año 2015 afectó el 18% del total del parque cafetero (14) y en 2016, de acuerdo con un estudio riguroso de las instituciones cafeteras del sector, determinó que 469.000 caficultores y 693.000 hectáreas presentarían algún tipo de afectación (37).

Estudios realizados en Centro América, Sur América y Centro de África, con el fin de predecir los efectos del cambio climático en las cadenas de suministro de café (4, 8, 10, 32, 33, 34, 36, 48), entre otros aspectos, demuestran que se registrarán cambios considerables en calidad; muchas regiones donde se cultiva de forma tradicional el café perderán aptitud y surgirán nuevas zonas, con desplazamiento hacia zonas de mayor altitud. El clima tenderá a la estacionalidad, con variaciones en la temperatura y la precipitación a través del año, la primera con incrementos y la segunda con disminución; pero no sólo son las tendencias en cuanto a los cambios, sino las estrategias que se plantean para mitigarlos. Los mismos autores advierten de la necesidad de fortalecer la investigación que les permita a los cafeteros adaptarse a esos nuevos ambientes, que los actores de toda la cadena inviertan más en redes colaborativas y compartan el conocimiento, de manera que aseguren su permanencia en el negocio. De otro lado, la mayor parte de las plantas se estarán

cultivando en condiciones desfavorables para su crecimiento y desarrollo, lo que implica pérdidas en el potencial genético para la producción bajo condiciones de estrés (47).

En Colombia, los estudios en café muestran cómo de forma recurrente se presentan los eventos El Niño y La Niña, este último con menor frecuencia. Durante las fases de los dos eventos, los vientos Alisios disminuyen o aumentan su intensidad, y la superficie de las costas de Perú, Ecuador y Colombia se calientan o enfrían (12, 25, 26). Dichos eventos originan que los regímenes de lluvia no sigan un patrón normal, con déficits o incrementos entre un 20% y 40% (52).

El panorama futuro plantea un reto al gremio cafetero y, en especial, el direccionamiento de los temas de investigación, es por esta razón que en este estudio se busca identificar cómo las regiones cafeteras colombianas estarán cambiando su aptitud actual, en el marco del escenario futuro (A2), proyectado a 2030 y 2050, teniendo como base los Indicadores Bioclimáticos identificados como predictores de respuestas fenotípicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización del clima actual de la Zona Cafetera Colombiana (ZCC)

La línea base climática se obtuvo de los datos de clima históricos de *WorldClim* (18), generados mediante procesos de interpolación de datos climáticos mensuales promedio, a 5,0 km de resolución. La base de datos incluye para Colombia 1.491 estaciones meteorológicas, de las cuales el 35% se encuentran dentro de la zona cafetera, 528 con precipitación, 212 para temperatura media y 95 para temperatura máxima y mínima. Las variables derivadas de la temperatura y precipitación mensual se obtuvieron de base *WorldClim*, adaptadas a

etapas fenológicas del cultivo. Otros indicadores bioclimáticos se construyeron con base en las mismas variables, y en otras modeladas a partir de fórmulas propias o propuestas por diferentes autores.

Caracterización del clima futuro de la Zona Cafetera Colombiana

Modelos de Circulación Global (GCMs).

Las condiciones de clima proyectado para la ZCC para los periodos 2030 y 2050 fueron derivadas de 19 GCMs, en el escenario de emisiones (SRES) A2, definidos por el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC), en el informe especial sobre escenarios de emisiones (22): bccr_bcm2_0, cccma_c3_1_t47, cnrm-cm3, csiro_mk3_0, csiro_mk3_5, gfdl_cm2_0, gfdl-cm2_1, giss-model-er, ing-echam4, inm_cm3_0, ipsl-cm4, miroc3_2_dres, miub_echo_g, mpi_echam5, mri_cgcm2_3_2a, ncar_ccsm3_0, ncar-pcm1, ukmo_hadcm3 y ukmo_hadgem1.

Escenario de emisión. Los escenarios de emisión comprenden tanto las fuerzas que rigen las emisiones como las metodologías. Estos cambios conciernen, por ejemplo, a la intensidad en carbono del suministro de energía, a la desigualdad de ingresos entre los países desarrollados y los países en desarrollo y a las emisiones de azufre (22).

El tema subyacente al escenario A2, que se utilizó en esta modelación, es la autosuficiencia y la conservación de las identidades locales. Pautas de fertilidad en las regiones convergen muy lentamente y la población aumenta progresivamente. El desarrollo económico tiene una orientación principalmente regional y per cápita, el crecimiento económico y el cambio tecnológico están más fragmentados y son más lentos que en otras líneas evolutivas. El escenario asume un incremento del CO₂ (22).

Resolución espacial de los GCMs. Para análisis de impactos en la caficultura colombiana, en la mayor parte de los casos, la resolución espacial supera los 100 km, lo cual dificulta un análisis en zonas montañosas como la región objeto de este estudio. La información con resolución de 5 km fue obtenida en el CIAT, a partir de la base de datos generada como producto de la reducción de escala, mediante el Método Delta propuesto por Ramírez y Jarvis (49). El conjunto de datos comprende cuatro variables a un intervalo de tiempo mensual, promedios de temperatura media, máxima, mínima, radiación solar y precipitación total.

Validación de la información de las variables climáticas en los GCMs. De manera previa se definieron unos parámetros de restricción de las variables, soportados en la información de distribución del cultivo del café en Colombia. Se tuvieron en cuenta los datos climáticos observados en el período 1971 a 2010, en 80 estaciones de la Red Climática Cafetera y se definió que para el área en el entorno de la Zona Cafetera Colombiana un GCM en su línea base no debía presentar:

- 10% de los datos o más con amplitud térmica $\leq 4^{\circ}\text{C}$ o amplitud térmica $\geq 17^{\circ}\text{C}$
- 15% de los datos o más con temperatura media $\leq 16^{\circ}\text{C}$ o temperatura media $\geq 25^{\circ}\text{C}$
- 10% o más de los datos con radiación solar $\leq 8,6 \text{ Mjoul.m}^2\text{-día}^{-1}$ o radiación solar $\geq 23 \text{ Mjoul.m}^2\text{-día}^{-1}$

Con base en el anterior criterio, seis modelos del escenario A2 presentaron valores restrictivos, que obligaron a eliminarlos de los

análisis de aptitud, éstos fueron: ncar-pcm1, ing-echam4, cnrm-cm3, ipsl-cm4, gfdl-cm2_1 y giss-model-er.

Información de Predios Cafeteros. EL SIC@ forma parte de la infraestructura de datos de la Federación Nacional de Cafeteros, es una base de datos única, georreferenciada y de cobertura nacional, que posee información espacial y alfanumérica (13). Se utilizó para el presente estudio la versión de SIC@ de junio del año 2012; en total, para el análisis se extrajo la georreferenciación de un lote de café por cada una de 705.000 fincas cafeteras, en 20 departamentos cafeteros. Se asociaron a cada finca los atributos de departamento, municipio, área total, área cafetera, área del cultivo, ecotopo cafetero¹ y vertiente.

Datos fenológicos

Información de patrones de cosecha. A partir de trabajos previos (2), se generó un ráster de cosechas ajustado a la zona cafetera, con dos criterios: cosecha principal predominante en el segundo semestre (entre julio y diciembre) y cosecha principal predominante en el primer semestre (entre enero y junio). Estos criterios se utilizaron en la construcción de las etapas fenológicas del cafeto. Se presumió, para efectos de consolidar las etapas, que octubre y mayo corresponden al mes de cosecha principal (mes pico de máxima producción) en zonas con patrón de cosecha en el segundo y primer semestre, respectivamente.

Períodos de consolidación y momentos fenológicos. Se definieron tres momentos fenológicos previos al mes de cosecha principal, con el fin de relacionarlos con los índices bioclimáticos, éstos son:

¹ Región delimitada geográficamente, teniendo en cuenta condiciones predominantes de clima, suelo y relieve, donde se obtiene una respuesta biológica similar del cultivo de café (16).

a. Cuatro meses previos a la máxima floración, en adelante se denominará etapa 1 (1, 6).

b. Cuatro primeros meses de desarrollo del fruto de cosecha principal, en adelante se denominará etapa 2 (1, 3).

c. Cuatro meses previos a la cosecha principal, en adelante se denominará etapa 3 (1, 3).

Obtención de los indicadores bioclimáticos.

Para cada uno de los modelos de cada escenario futuro y para el escenario actual (línea base) se calcularon diferentes índices, los cuales al combinarse con los estados fenológicos permitieron un análisis de la variabilidad interanual, de relevancia en el cultivo del café.

Índice de Evapotranspiración. Para el cálculo del balance hídrico mensual se adaptó la rutina en R (54) generada por García (15). Se tuvieron constantes los valores de lluvia efectiva y capacidad de retención de humedad, el primero con 54% (30) y el segundo de 50 mm, utilizado en las rutinas para el balance hídrico de la Disciplina de Agroclimatología de Cenicafé. Al final de la rutina se obtuvo el índice de evapotranspiración (IHS). El Déficit Hídrico Moderado (DM) se constituyó en el rango $0,5 \leq IHS \leq 0,8$, mientras el déficit Hídrico Fuerte (DF) se estableció cuando el $IHS < 0,5$. En cada etapa se contabilizaron, de manera independiente, los meses que cumplieran con los criterios de los dos índices, además de la lluvia acumulada (PP), generando los siguientes indicadores bioclimáticos:

PP1 = lluvia acumulada etapa 1

PP2 = lluvia acumulada etapa 2

PP3 = lluvia acumulada etapa 3

DM1 = número de meses con déficit hídrico moderado en la etapa 1

DM2 = número de meses con déficit hídrico moderado en la etapa 2

DM3 = número de meses con déficit hídrico moderado en la etapa 3

DF1 = número de meses con déficit hídrico fuerte en la etapa 1

DF2 = número de meses con déficit hídrico fuerte en la etapa 2

DF3 = número de meses con déficit hídrico fuerte en la etapa 3

Radiación solar. A partir de los valores mensuales se obtuvo el promedio por cada etapa en $Mjoul.m^{-2}.día^{-1}$ y se generaron los siguientes indicadores:

SR1 = promedio mensual de radiación solar etapa 1

SR2 = promedio mensual de radiación solar etapa 2

SR3 = promedio mensual de radiación solar etapa 3

Índices Térmicos. A partir de la información de las temperaturas máxima ($T_{máx}$), mínima ($T_{mín}$) y media (T_{media}) mensuales, tanto para la línea base como para los GCMs, y con la temperatura base inferior (T_{base}) de $10^{\circ}C$, determinada por Jaramillo y Guzmán (27) para el café en Colombia, se generaron los índices de amplitud térmica (AT) o gradiente térmico ($T_{máx} - T_{mín}$), y el de tiempo térmico (TT) o grados/día ($(T_{media} - T_{base}) \times \text{Número de días del mes}$). Para cada una de las tres etapas fenológicas propuestas se acumuló el TT (51) y se obtuvo el promedio mensual de la AT. Se generaron los siguientes índices bioclimáticos:

TT1 = tiempo térmico acumulado etapa 1

TT2 = tiempo térmico acumulado etapa 2

TT3 = tiempo térmico acumulado etapa 3

AT1 = promedio mensual de AT en la etapa 1

AT2 = promedio mensual de AT en la etapa 2

AT3 = promedio mensual de AT en la etapa 3

Incorporación de los índices bioclimáticos a las bases. Además de los 18 índices bioclimáticos construidos, a cada uno de los 5.141 centroides de la máscara cafetera obtenida en el entorno de los ecotopos cafeteros se asoció el componente fisiográfico de pendiente, incorporándose así 19 atributos para cada pixel, además de los correspondientes a su georreferenciación.

Predicción de aptitud del cultivo.

Generalmente, los modelos fisiológicos integran respuestas de los cultivos a cambios ambientales y complejas interacciones que permiten su parametrización, y de esta manera determinar los factores que afectan el crecimiento y producción. Recientemente se mencionan modelos en café (40, 55, 56), los cuales incluyen varios de los aspectos mencionados. El interés no es abordar con un nivel de detalle la obtención de un modelo para café sino, soportados en la metodología que se describe por diferentes autores (35, 36, 44, 48, 53), utilizando un modelo de Nicho Ecológico como MAXENT, partir de la información de la distribución actual del cultivo (datos de presencia) y estimar una probabilidad de distribución. La información disponible de la distribución objeto de estudio, por sí misma presenta un conjunto de valores reales, llamados entidades o elementos, y las restricciones son los valores esperados de cada entidad, que deben coincidir con su promedio empírico (45, 46). Típicamente habrá muchas distribuciones que satisfagan esas restricciones, el principio de Máxima Entropía sugiere que, dentro de todas las distribuciones que satisfagan esas restricciones, se prefiere la más ajustada (45, 46). En este caso la modelación se enmarca en el área cafetera colombiana, sobre la cual la distribución de probabilidad de Maxent es definida, los píxeles con registro de distribución

de predios cafeteros se constituyen en los puntos de muestreo y los bioindicadores, pendiente del terreno y sus funciones, en las entidades.

La probabilidad de distribución es la suma de cada variable ponderada, dividida por una constante escalar para asegurar que los valores de probabilidad fluctúen entre 0 y 1, de otra manera, Maxent asigna una probabilidad no negativa a cada pixel en el área de estudio, debido a que esas probabilidades deben sumar uno (11, 45). El programa comienza con una distribución de probabilidad uniforme e iterativamente altera un peso a la vez, para maximizar la probabilidad de alcanzar la distribución de probabilidad óptima. Con el software Maxent (versión 3.3.3k²), de manera preliminar, se establecieron las interacciones entre los puntos de muestra, 500 predios cafeteros, y sus condiciones bioclimáticas; posteriormente, las mismas interacciones se proyectaron con cada una de las superficies climáticas, de cada uno de los modelos para cada escenario.

Se consideró el 25% de los registros como muestra para pruebas que utilizan el concepto de Curva Operada por el Receptor, que permite cuantificar la sensibilidad y especificidad. La primera corresponde a la fracción de todas las instancias positivas que son ciertas, se conoce como la tasa de verdaderos positivos y representa la ausencia de error de omisión; la segunda, corresponde a todas las instancias negativas que son falsas, a partir de ésta se determina, por la cantidad de 1-especificidad, la tasa de falsos positivos y representa la presencia de error (45).

La aptitud climática corresponde al nivel de presencia de ciertas características

² www.cs.princeton.edu/~schapire/maxent

climáticas que permiten satisfactoriamente el cultivo de café, deducido a partir de los controladores climáticos o bioindicadores que prevalecen en los sitios definidos en el entorno de la zona cafetera colombiana, descritos con anterioridad. El cálculo del cambio de aptitud se obtuvo por diferencia entre las aptitudes de cada uno de los escenarios futuros y la línea base, luego se obtuvo el promedio del cambio en aptitud de todos los GCMs por cada pixel dentro de la máscara cafetera, como medida de la tendencia general y distribución geográfica de la variabilidad entre GCMs.

El grado de concordancia entre los cambios de aptitud predichos se estimó como el porcentaje de los GCMs que predicen cambios en la misma dirección que el promedio de todos los modelos para un centroide dado.

RESULTADOS

Descripción de la información climática de los GCMs. La tendencia general es a incrementar la expresión de temperatura media hacia el futuro, con mayor proyección hacia el año 2050, donde se observan valores máximos de 2,5°C, mientras que en el año 2030 corresponde a la mitad de este valor. La información que se recoge de las diferencias en comportamiento por zona cafetera a nivel departamental, muestra que la mínima cantidad de incremento promedio esperado es 0,8 y 1,6°C para los años 2030 y 2050, respectivamente. La tendencia de mayores cambios se observa en aquellas áreas ubicadas en el Norte y Oriente de Colombia, a su vez las zonas con valores de incremento más reducidos predominan en el Sur de Colombia (Tabla 1).

Los incrementos de TT oscilan entre 120 y 230 grados/día acumulados por etapa para los años 2030 y 2050, respectivamente,

con máxima expresión en la zona Norte de Colombia, por su mayor incremento en temperatura media.

Para el caso de la lluvia, en la Etapa 1 se registrarán los mayores incrementos más acentuados hacia el año 2050; para esta etapa los mayores cambios positivos se registrarán entre las zonas cafeteras de los departamentos del Sur de Colombia y el Piedemonte Llanero (Tabla 1), hasta la zona Centro del Valle del Cauca, la zona Norte de Tolima y el Sur de Cundinamarca.

La condición de comportamiento de la lluvia se modifica hacia las etapas 2 y 3, que corresponden al desarrollo del fruto, en las cuales se presentará disminución de la lluvia en la zona del Norte de Colombia y algunos departamentos del Oriente (Tabla 1). El incremento de las lluvias se observa más acentuado hacia el sur y centro-sur de Colombia.

A partir de los balances hídricos realizados para cada escenario pueden establecerse los cambios estacionales para cada zona cafetera. Anteriormente se mencionó cómo la lluvia se incrementará en la etapa 1 en algunas zonas cafeteras del Sur de Colombia, no obstante, los balances hídricos en la situación actual, en regiones del Piedemonte Llanero, Sur del Huila y Centro del Tolima muestran un acumulado de al menos tres meses con DF y DM en esta etapa y se le sumarían al menos dos meses más en las siguientes dos etapas, situación que define restricciones para el cultivo y en el futuro no cambiarían. Similar situación se presenta en las zonas cafeteras del Norte de Colombia entre Noroccidente de Santander, Norte de Santander, Cesar, La Guajira y Magdalena, en las cuales predominan los DM y el acumulado anual de meses con déficit hídricos supera los siete meses; la situación más crítica se presenta las zonas

Tabla 1. Cambios proyectados en precipitación y temperatura en escenarios futuros A2 2030 y A2 2050, en las zonas cafeteras de Colombia.

Departamento	Zona Cafetera	Cambios proyectados Escenario A2 2030				Cambios proyectados Escenario A2 2050			
		Cambio en los niveles de lluvia por etapa (mm)			Incremento en la temperatura media anual en °C	Cambio en los niveles de lluvia por etapa (mm)			Incremento en la temperatura media anual en °C
		Etapas 1	Etapas 2	Etapas 3		Etapas 1	Etapas 2	Etapas 3	
Cesar	Norte	5	-17	-25	1,15	4	-29	-35	2,22
La Guajira	Norte	4	-15	-27	1,09	0	-24	-39	2,02
Magdalena	Norte	3	-12	-26	1,11	-1	-22	-43	1,90
Norte de Santander	Norte	10	-22	-24	1,12	11	-28	-23	2,33
Santander	Norte	18	-23	-24	1,06	22	-39	-17	2,19
Boyacá	Oriente	22	-22	-28	1,04	34	-40	-11	2,11
Caquetá	Oriente	24	13	0	0,99	53	12	31	1,97
Casanare	Oriente	22	-30	-34	1,09	27	-61	-30	2,29
Meta	Oriente	20	-11	-20	1,01	46	-19	6	2,01
Antioquia	Centro	4	11	21	1,00	13	14	38	1,94
Caldas	Centro	10	22	24	0,97	27	21	43	1,83
Chocó	Centro	-1	19	14	0,98	10	13	27	1,79
Cundinamarca	Centro	16	-6	-17	0,99	39	-1	-3	1,95
Quindío	Centro	20	23	17	0,98	39	23	22	1,75
Risaralda	Centro	6	25	19	0,98	21	20	32	1,77
Tolima	Centro	21	19	13	0,97	46	23	23	1,82
Valle del Cauca	Centro	14	20	13	0,97	31	21	20	1,73
Cauca	Sur	20	21	12	0,95	46	33	17	1,80
Huila	Sur	24	19	6	0,96	56	26	22	1,90
Nariño	Sur	15	18	18	0,94	41	30	18	1,81

Cambios en niveles de lluvia

■ Disminución en más de 20 mm
 ■ Variación entre -20 y 20 mm
 ■ Aumento en más de 20 mm

Cambios en temperatura

■ Aumento inferior a 1°C
 ■ Aumento entre 1°C y 1,5°C
 ■ Aumento entre 1,5°C y 2,1°C
 ■ Aumento superior a 2,1°C

hacia el Noroccidente de Santander, Norte y Centro-Oriente de Norte de Santander y Sur de Cesar, dado que la condición de dos meses con déficit en cada una de las etapas dos y tres, restringe al cultivo, aún en la situación futura en la que tienden a disminuir ligeramente los meses con DF.

Contrario a lo anterior, otras zonas cafeteras presentan un reducido número de meses con DF y DM en la Etapa 1, las cuales predominan con cultivos en zonas de mayor altitud y adicionalmente reflejan hoy en día TT inferiores o cercanos a 1.000°C por etapa, que le confieren limitación por su crecimiento y desarrollo reproductivo.

Predicciones de aptitud del cultivo del café. Los resultados de Maxent reflejan un desempeño medio con unos valores de área bajo la curva (AUC Kappa) entre 0,492 para los datos de prueba (25%) y 0,775 para los datos de entrenamiento (75%). Los resultados de la significancia estadística de la predicción, que usan una prueba binomial de omisión, mostraron tasas bajas, sin exceder más del 10% para el Escenario A2, con un umbral acumulado de 10%.

Los resultados de Maxent muestran una condición actual de aptitud entre muy buena y excelente, mayor al 50%, para el 52% del cultivo de café en Colombia; hacia el futuro se verán afectadas, con cambios superiores al 10%, 187 mil hectáreas en el año 2030 (datos no mostrados) y 312 mil hectáreas en el año 2050 (Tabla 2).

Las hectáreas con aptitud actual media y baja, por debajo de 50%, según la calificación de Maxent, representan las zonas ubicadas a mayor altitud y en la zona Norte de Colombia, con limitaciones térmicas o de déficit hídrico. Hacia el futuro la aptitud permanece inalterada o el cambio es inferior

al 10%, en más del 95% del área de las zonas ubicadas a mayor altura y más del 85% de la Zona Cafetera de Cesar, La Guajira y Magdalena, mientras las zonas cafeteras entre el Suroccidente de Santander, Oriente de Antioquia y Caldas, Noroccidente de Cundinamarca, Norte del Tolima y Suroccidente de Huila, progresivamente cambiarán negativamente, por lo menos el 46% de sus áreas, en más del 10% respecto del año 2050, siendo más crítico para la zona cafetera del Oriente de Antioquia y Caldas y Noroccidente de Cundinamarca, con influencia del valle medio del Magdalena. En la Tabla 2 se observa por departamento cafetero, la proporción de pérdida de aptitud en el año 2050.

En la Figura 1 se presenta la condición de aptitud presente, futuro del año 2030 y futuro del año 2050. Algunas tendencias se visualizan en los mapas: varias zonas de menor aptitud (menor del 30%) se observan en las estribaciones de las grandes montañas; en la Sierra Nevada de Santa Marta, sobre los ecotopos 401 y 402 en Cesar y Magdalena y en la Serranía de Perijá, en los departamentos de Cesar y Norte de Santander; en las cordilleras propiamente, sobre el ecotopo 301A en Cesar, La Guajira y Norte de Santander, el ecotopo 306A en Santander, 302B en Norte de Santander, 305B en Boyacá y Casanare, 308B en Cundinamarca y Meta, 102B, 201A, 204A y 205B en Antioquia, 108B en Valle del Cauca y Risaralda, 107B en Caldas, 317A en Huila y Tolima, 214A en el Valle del Cauca y 209B en Tolima. Se observa gran influencia en estas zonas de las grandes cuencas hidrográficas de los ríos Magdalena, Catatumbo, Sogamoso, Guaviare y Meta.

Maxent proporciona información de las variables que tienen mayor representatividad en el modelo que más se ajusta a la condición

Tabla 2. Aptitud Actual y cambio futuro en los departamentos cafeteros, para el escenario A2 en el año 2050.

Aptitud actual	<30%				≥30% y <50%				≥50%				Porcentaje del área nacional		
	>20% y <=30%	>10% y <=20%	>0% y <=10%	Sin cambio	>20% y <=30%	>10% y <=20%	>0% y <=10%	Sin pérdida	>20% y <=30%	>10% y <=20%	>0% y <=10%	Sin cambio			
Antioquia	0,1%	11,8%	5,7%	3,5%	1,9%	22,1%	11,7%	2,4%	5,1%	0,9%	7,1%	15,0%	11,7%	1,0%	14,3%
Boyacá	0,0%	5,8%	6,6%	4,0%	0,0%	9,9%	14,8%	19,3%	15,8%	0,7%	4,2%	14,9%	4,0%	0,0%	1,2%
Caldas	0,0%	2,9%	2,6%	6,1%	0,9%	11,4%	7,2%	2,9%	8,9%	2,4%	17,2%	14,5%	15,1%	7,7%	8,6%
Caqueta	0,0%	4,2%	8,6%	2,5%	1,1%	16,6%	18,2%	6,2%	16,0%	3,1%	4,6%	9,9%	7,6%	1,2%	0,4%
Casanare	0,0%	0,9%	15,8%	83,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%
Cauca	0,0%	0,3%	0,6%	2,8%	0,6%	2,3%	0,1%	1,1%	4,6%	15,1%	22,9%	33,5%	12,1%	4,1%	8,8%
Cesar	0,7%	10,6%	16,3%	26,3%	0,1%	6,8%	17,9%	18,0%	0,7%	2,5%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	2,8%
Chocó	0,0%	0,0%	0,0%	33,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	33,5%	33,6%	0,0%	0,0%
Cundinamarca	0,0%	5,1%	4,5%	6,8%	1,7%	16,0%	25,0%	8,5%	3,2%	3,9%	13,2%	9,7%	2,5%	0,0%	4,7%
Huila	0,1%	0,6%	1,8%	2,3%	0,6%	2,3%	3,3%	5,8%	8,5%	9,3%	18,9%	11,2%	25,4%	9,9%	14,3%
La Guajira	0,0%	2,9%	22,7%	28,2%	0,0%	2,3%	11,4%	7,0%	25,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,6%
Magdalena	0,0%	5,2%	7,3%	7,9%	0,0%	4,4%	28,4%	24,9%	11,8%	0,0%	3,4%	2,2%	4,5%	0,0%	2,1%
Meta	0,0%	11,2%	63,9%	0,4%	1,1%	8,7%	8,9%	5,6%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%
Nariño	0,0%	0,8%	0,3%	6,2%	0,4%	0,7%	2,5%	9,9%	6,0%	14,7%	17,3%	26,6%	14,6%	0,2%	3,9%
Norte de Santander	0,2%	11,1%	11,9%	22,3%	0,0%	13,0%	10,4%	11,7%	7,1%	2,5%	8,2%	0,9%	0,6%	0,0%	3,5%
Quindío	0,0%	0,0%	0,1%	5,9%	1,8%	19,2%	0,5%	0,0%	6,7%	2,0%	6,0%	33,2%	24,2%	0,4%	3,3%
Risaralda	0,0%	2,1%	3,1%	2,5%	1,6%	8,0%	3,4%	1,1%	7,5%	0,0%	19,9%	19,6%	31,0%	0,1%	5,7%
Santander	0,0%	4,0%	7,7%	5,4%	1,4%	6,8%	12,0%	26,0%	7,0%	7,8%	3,2%	11,9%	6,8%	0,0%	4,9%
Tolima	0,0%	2,2%	3,9%	4,5%	0,8%	7,8%	12,2%	3,1%	9,5%	7,4%	10,3%	12,0%	20,9%	5,3%	12,0%
Valle del Cauca	0,0%	5,8%	5,4%	4,7%	1,9%	5,8%	14,7%	3,0%	10,0%	3,7%	8,9%	21,5%	13,5%	0,9%	8,1%

En rojo se resaltan las mayores pérdidas, superiores al 10%. En azul, los valores con pérdidas inferiores a 10%. En verde se destacan las mayores proporciones que no sufrirán cambio negativo

de la caficultura colombiana. Los indicadores con mayor contribución porcentual al modelo se relacionan con el TT, en cualquiera de sus etapas, DM2, PP3 y SR2. En las rutinas adicionales de contribución y permutación (jackknife) que ejecuta Maxent, el modelo cada vez excluye un bioindicador y crea un modelo con los restantes; los mayores valores de permutación se consiguen con TT1 y SR2; en estas pruebas adicionales una ganancia negativa se relaciona con AT2 y AT3, lo cual determina que no sean buenos predictores de distribución.

Predicción de cambio de aptitud. La incertidumbre de la predicción de cambio de aptitud entre el presente y el Escenario A2 2030 presentó niveles aceptables (Figura 2), los mayores niveles de certidumbre, superiores a 70%, se registran en 500 mil hectáreas sobre la Sierra Nevada de Santa

Marta hacia el Magdalena, Serranía de Perijá sobre Cesar, Piedemonte Llanero hacia Meta y Caquetá, Centro y Norte de Huila, Suroriente del Valle del Cauca y Noroccidente de Antioquia, principalmente.

Los mapas de la Figura 2A, 2B y 2C representan los cuartiles 1, 2 y 3, respectivamente; la tendencia en el cambio muestra zonas con valores negativos y positivos; los primeros, con pérdidas superiores al 10% de la aptitud en más del 40% de su área actual, tienden a concentrarse en Antioquia, Cauca, Cundinamarca, Quindío y Nariño.

La mayor parte de los departamentos experimentarían cambios negativos inferiores al 10%, destacándose los departamentos de Chocó, Meta y Risaralda, con más del 60% de sus áreas en esta condición. Por su parte, los departamentos que ganarán

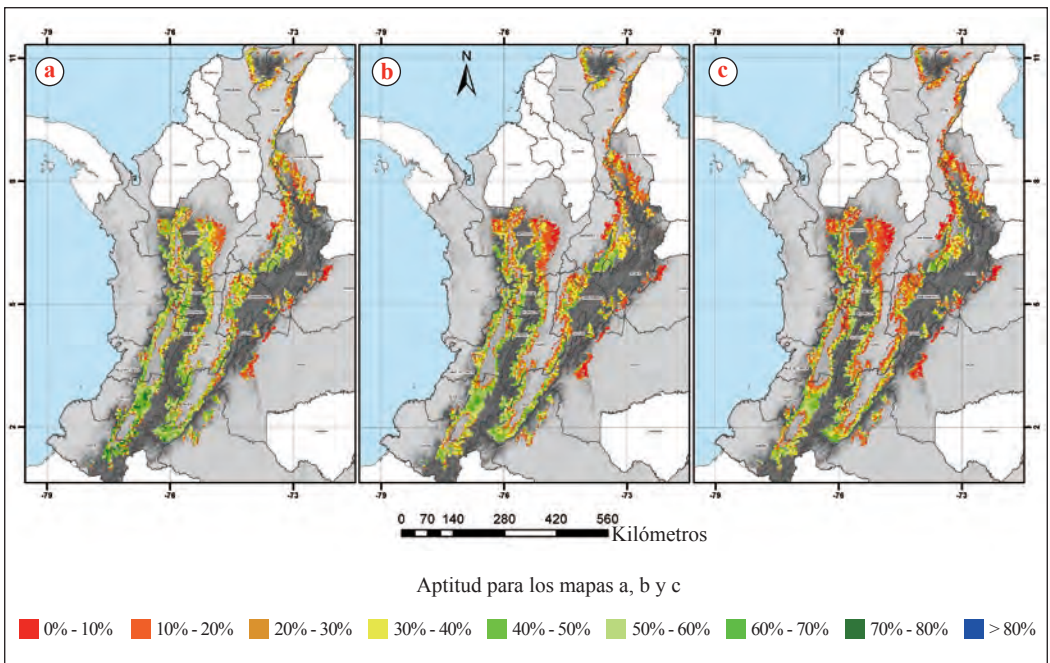


Figura 1. a. Aptitud climática actual; b. Futura 2030s y c. 2050s. Escenario A2, de las áreas productoras de café en Colombia.

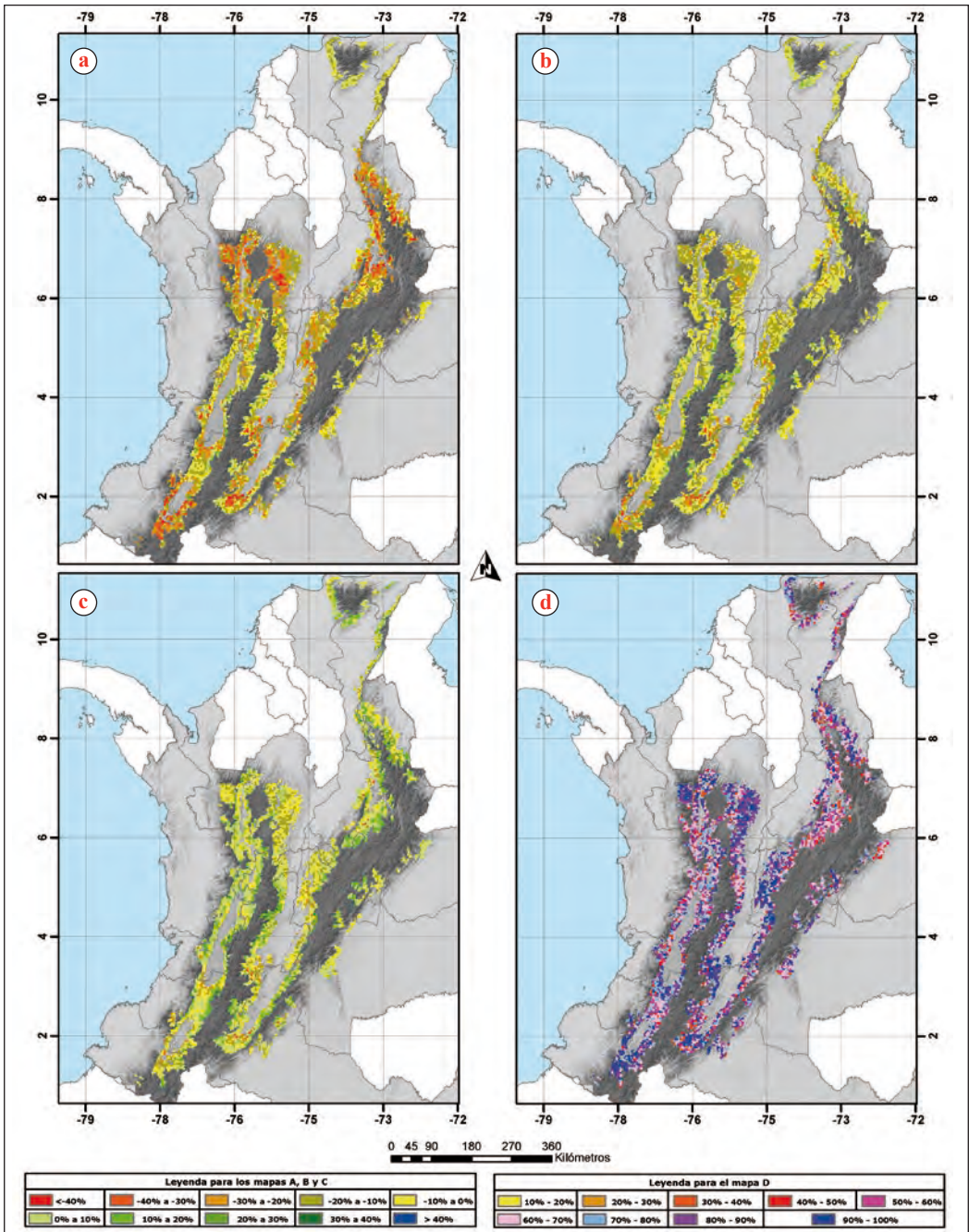


Figura 2. Incertidumbres en predicción de cambio de aptitud de las regiones cafeteras colombianas para el escenario A2 2030. Los tonos rojo y naranja representan pérdida de aptitud y verde y azul ganancia. **a.** Promedio del primer cuartil; **b.** Promedio; **c.** Promedio del tercer cuartil; **d.** Nivel de concordancia entre GCMs (fracción de los GCMs que tienen la misma tendencia de cambio de aptitud de la media).

aptitud o por lo menos no cambiarán, son Casanare, La Guajira, Magdalena y Cesar. En la Tabla 3 y los mapas de la Figura 1, se observan las áreas cafeteras que involucran los cambios por departamento (promedio de los modelos) acompañadas del grado de concordancia en el escenario A2 2030.

Un análisis de los cambios negativos superiores al 10% para A2 2030, muestra que los ecotopos 318A, 319A y 213B en el Huila, 211B y 209B en Tolima, 220A y 221A en Nariño, 102B, 105B y 101B en Antioquia, 305A en Santander, 218A y 219A en Cauca, 314A y 312A en Cundinamarca y 206A en Caldas, representan el 50% de las 319.570 ha con esta tendencia en el cambio; algunos ecotopos diferentes de los anteriores, comprometen más del 60% de su área cafetera en este cambio, son ellos el 220A, 106A, 113B, 216A y 217A en Cauca, 204B, 202B, 101A, 201B y 103B en Antioquia, 313A y 309A en Cundinamarca, 113B en Nariño, 112B en el Valle del Cauca, 211B en Huila, 206A en Caldas y 317A en Tolima, que en total representan el 14% del área.

En la Figura 1 se observa cómo los mayores cambios se prevén en las zonas bajas de las cuencas de los ríos Patía, Cauca, Magdalena y Catatumbo. Sobre la cuenca del Magdalena Medio se observa una tendencia marcada a disminuir la aptitud en zonas cafeteras del Oriente antioqueño y el Occidente de los Santanderes, Cundinamarca y Boyacá.

DISCUSIÓN

Las consecuencias de cambio de aptitud del café han sido ampliamente debatidas, el hecho radica en que el concepto aquí propuesto está fundamentado en la utilización de indicadores bioclimáticos ajustados a criterios fenológicos que se aproximan más a

las condiciones de la caficultura colombiana, en gran parte establecida sobre laderas en sistemas montañosos donde operan una gran diversidad de factores moduladores (29).

El incremento en los valores térmicos en el escenario A2 2050, registrado en las diferentes zonas cafeteras, concuerda con los valores reportados por Ramírez *et al.* (50), en los cuales la tendencia de aumentar más en el Norte que en el Sur de Colombia se mantiene. Reportes de estudios en Centroamérica están muy próximos a los obtenidos en este estudio, varios autores registran aumentos en la temperatura media de 2,0 a 2,5°C para el año 2050 (17, 32, 34, 41, 53). En Centroamérica (9), estos valores pueden llegar a extremos de 4,2°C en el año 2100, en el escenario A2. Los valores de precipitación en el mismo escenario comparado para los valores térmicos, aunque presentan una coincidencia en la tendencia en la media a aumentar en la región Andina y disminuir en la región Caribe (50), presentan efectos contrastantes entre las etapas fenológicas; el análisis indica que es muy probable que la Etapa 1 experimente incrementos en la precipitación superior al 7%, con mayor grado de certidumbre en las partes altas de la zona Sur y Piedemonte Llanero, mientras que en las Etapas 2 y 3, la condición varía dependiendo de la zona cafetera, con la mayor probabilidad de disminuciones entre el 4% y 6% esperadas en la zona Caribe. Los comportamientos más erráticos de la variación, independiente de la etapa fenológica, se observan en las máximas elevaciones de las tres cordilleras y la Sierra Nevada de Santa Marta y sobre el Piedemonte Llanero y centro de Huila.

Algunos aspectos que pueden influir en el grado de variación corresponden al hecho de la menor densidad de estaciones meteorológicas en esos sitios, en las que

Tabla 3. Áreas comprometidas en los cambios de aptitud entre el Escenario Actual y A2 2030s, en los Departamentos Cafeteros de Colombia.

Departamento	Área Cafetera (Ha)		Cambio Negativo Superior al 10%		Área Cafetera (Ha)	Cambio Positivo		Grado de Concordancia **
			Municipios*	Ecotopos*		Municipios*	Ecotopos*	
Antioquia	62.100		Andes, Salgar, Betulia, Concordia	102B - 105B - 101B - 101A - 204B	16.500	Ciudad Bolívar, Abejorral, Sonsón, Andes	204A - 102B - 101B - 201A - 205B	76%
Boyacá	3.321		Moniquirá, Zetaquirá, Miraflores	306B - 310A	3.250	Moniquirá, Togui, Briceño	308A - 310A	68%
Caldas	20.208		Chinchiná, Patestina, San José, Samaná	206A - 107B - 204A	25.528	Neira, Anserma, Manizales, Aranzazu, Filadelfia, Villamaría	204A - 205A - 107B	71%
Caqueta	1.043		Puerto Rico, Montañita	309B	812	San Vicente del Caguán	309B	77%
Casanare	-				1.354	Támara	305B	56%
Cauca	33.124		Morales, Piendamó, Caldono, Balboa, Suárez, Santander de Quilichao	218A - 219A - 217A - 113B - 112B	15.540	Inzá, Páez, Caldono, Cajibío	213B - 218A - 217A - 112B	75%
Cesar	2.890		Aguachica, La Paz, Agustín Codazzi	301A	12.944	Pueblo Bello, Valledupar, La Paz	402 - 301A	71%
Chocó	-				69	El Carmen	102A	84%
Cundinamarca	23.637		Viotá, San Juan de Río Seco, La Mesa, El Colegio, Vergara	314A - 312A - 313A	5.467	San Cayetano, Viotá, Fusagasugá, San Francisco	310A - 315A	83%
Huila	49.689		Pitalito, Acevedo, La Plata, Pital, Saladoblanco, Tirmaná	319A - 213B - 318A - 211B	27.723	Gigante, Algeciras, Pitalito, Guadalupe, San Agustín	317A - 318A - 319A - 213B	74%

Continúa...

...continuación.

Departamento	Área Cafetera (Ha)		Cambio Negativo Superior al 10%		Área Cafetera (Ha)	Cambio Positivo		Grado de Concordancia **
	Municipios*	Ecotopos*	Municipios*	Ecotopos*		Municipios*	Ecotopos*	
La Guajira	565	Urumita, San Juan del Cesar	301A	301A	2.254	Urumita, Riohacha	301A - 402	68%
Magdalena	3.937	Ciénaga, Santa Marta	401	401	11.200	Ciénaga, Fundación, Santa Marta	401	77%
Meta	287	Mesetas, Lejanias	308B	308B	354	Mesetas, Lejanias	308B	75%
Nariño	28.517	La Unión, San Lorenzo, Buesaco, Colón, Sandoná	221A, 220A	220A	1.933	San Pedro de Cartago, San Pablo	220A	86%
Norte de Santander	13.368	Salazar, Cucutilla, Sardinata	302B - 301B	302B	9.399	Arboledas, Convención, Toledo, Lourdes	302B	73%
Quindío	6.365	Quimbaya, Armenia, Montenegro	210A - 211A	210A - 211A	11.366	Génova, Calarcá, Pijao	210A - 211A	71%
Risaralda	4.557	Santuario, Belén de Umbria, Apia	107B - 108B	107B - 108B	15.734	Santa Rosa, Santuario	107B - 207A - 206A	65%
Santander	17.267	Socorro, San Gil, San Vicente de Chucurí	305A - 302A - 306A	305A - 302A - 306A	8.290	Coromoro, San Andrés, Caharalá, Floridablanca	307A - 302A	67%
Tolima	32.156	Ataco, Planadas, Rioblanco, Rovira, Chaparral	211B - 209B - 316A - 210B	211B - 209B - 316A - 210B	39.576	Ibagué, Líbano, Ortega, Rovira, Anzoátegui	209B - 206B - 208B - 210B	77%
Valle del Cauca	16.546	Trujillo, Dagua, Caicedonia, Jamundí	103A - 105A - 110B	103A - 105A - 110B	27.444	Ansermanuevo, Trujillo, Tuluá, El Águila, Riofrío	103A - 108B - 214A - 110B	73%

*Corresponden a los de mayor área representada en el cambio

**Corresponde al porcentaje de modelos que presentan la misma tendencia en el cambio de aptitud (positiva o negativa) con respecto a la media

un proceso de interpolación de datos no permite un buen ajuste de los GCMs; además, procesos convectivos, de nubosidad, la circulación local y la altitud, entre otros, son factores determinantes en la precipitación (27), y los niveles de condensación, de acuerdo con la vertiente, determinan que un rango altitudinal exprese una mayor cantidad de lluvia que otra (31). El cambio en precipitación anual muestra la tendencia en zona Caribe y Santanderes a disminuir entre el 1,6% y 3,5% (30 a 64 mm anuales), esta situación registra la misma tendencia con las observaciones en Centroamérica, donde se esperan cambios negativos entre 80 y 85 mm en Sierra Madre (México) (41, 53), entre 5% y 10% en Honduras y Nicaragua (32), 70 mm en Nicaragua y 80 mm en Veracruz (México) (33). De acuerdo con un informe de la CEPAL (9), respecto al promedio del período 1980-2000 en el escenario A2, Centroamérica tendrá una reducción de la precipitación en promedio del 28% hacia el año 2100, con los valores de reducción más bajos en Panamá (18%) y más altos en Nicaragua (35%).

La aptitud del cultivo presenta una tendencia progresiva de cambios negativos superiores al 10%, que comprometen el 20% y 34% del área cafetera nacional en los años 2030 y 2050, respectivamente. La situación más crítica se presentará en aquellos sitios con menor aptitud hoy, menor al 50%, que registrarán tendencia en cambio negativo superior a 10%: Palestina, Samaná, San José, Risaralda y Chinchiná en Caldas; Cañasgordas, Ituango, Betulia, Dabeiba, Yolombó, Liborina, Santafé de Antioquia, Santa Bárbara, San Roque, Fredonia, Betania, Amalfi, Peque y Salgar en Antioquia; Santa Marta y Ciénaga en Magdalena; San Juan de Riosoco, Viotá, Pulí y Peque en Cundinamarca; San Gil en Santander; Chaparral, Líbano, Rovira, Dolores, Cunday y Ortega en Tolima; Tarquí

en Huila; Quimbaya, Montenegro y Armenia en Quindío, Belén de Umbría en Risaralda; Toledo y Sardinata en Norte de Santander; Sevilla y Jamundí en Valle del Cauca; Suárez en Cauca.

Los municipios anteriores representan el 40% del área que registrará este cambio negativo, que corresponde a 133 mil hectáreas, de las cuales el 55% se encuentra bajo sombra; en esta condición la temperatura media y la amplitud térmica tienden a disminuir ya que los árboles de sombra actúan como amortiguadores, la reducción en temperatura media es cercana a 5°C (5) y la temperatura mínima de las hojas del café se incrementa entre 2 y 4°C (7), adicionalmente, bajo sistemas de alta sombra, una reducida variabilidad microclimática se traduce en reducción de la fluctuación térmica y la radiación solar, que a su vez disminuye la evapotranspiración (39).

Las zonas cafeteras que registran actualmente aptitud mayor al 50% según el modelo de Maxent, 483 mil hectáreas, se enmarcan dentro de cafcultura al sol de manera preferente (60%), en 187 mil hectáreas se registrarán cambios negativos, superiores al 10% en el año 2030, que comprometerán principalmente los siguientes municipios cafeteros: Pitalito, Acevedo, La Plata, Timaná, Saladoblanco, Pital, Santa María, Oporapa, Neiva, San Agustín, Garzón, Palermo y Gigante en el Huila; Ataco, Planadas, Rioblanco y Alpujarra en Tolima; Concordia, Andes Salgar, Pueblorrico y Ciudad Bolívar en Antioquia; La Unión, San Lorenzo, Colón, Sandoná, Buesaco, Samaniego, La Florida, Consacá y El Tablón en Nariño; Morales, Piendamó, Caldon, Balboa, Santander de Quilichao, La Vega, Toribío, El Tambo, Bolívar, Sucre y Argelia en Cauca; Chinchiná, Pácora y Belalcázar en Caldas; Argelia, Trujillo, Caicedonia, Dagua y El Cairo en Valle del

Cauca; Viotá y Vergara en Cundinamarca; Rionegro y San Vicente de Chucurí en Santander; Salazar y Cucutilla en Norte de Santander. El área en cambio negativo de los anteriores municipios representa el 65% del total estimado.

En el estudio más reciente realizado por Ovalle *et al.* (44), muestra cómo para el año 2050, en escenario A2, utilizando la metodología descrita, pero con indicadores bioclimáticos de *WorldClim*, los valores de cambio de aptitud para Colombia son de -0,16, -0,61 y 0,14 para la media y los límites inferior y superior, respectivamente. Aunque no se realiza el detalle por zonas, es claro que el modelo determina un rango de respuestas con pérdida de aptitud para la mayor parte de zonas y aumento para otras. Los autores predicen el movimiento de las áreas cafeteras hacia mayores altitudes, debido a la pérdida de aptitud de las zonas por debajo de 1.800 m. Vale aclarar que este estudio realizado para Colombia, incluye el conocimiento previo e información estructural de la caficultura, en la cual los dinamismos de los sistemas de producción con alternativas de adaptación como sombra y uso de variedades locales resistentes y desarrollo de estrategias sostenibles entre otras, le ha permitido a los caficultores mantener su productividad y calidad.

Puede concluirse que los resultados de la modelación de escenarios climáticos plantean que es muy probable que en la zona cafetera colombiana la condición de temperatura media aumente hacia el futuro, con cambios entre 1,2 y 2,5°C para los años 2030 y 2050, respectivamente. La lluvia disminuye en la zona Caribe, Piedemonte Llanero y zona Centro Norte, mientras que en la zona Sur tiende a aumentar o permanecer igual. El TT presenta aumentos entre 120 y 230 grados/día para los años 2030 y 2050, respectivamente.

Los cambios a futuro muestran mejor explicación cuando se analizan por etapas de desarrollo del cultivo. En el entorno de toda la caficultura se destaca que la Etapa 1, relacionada con la floración, experimentará aumento de la lluvia, mientras en las siguientes etapas de desarrollo del fruto, disminuirá en unas zonas y aumentará en otras. Independiente de la etapa, las zonas cafeteras que con mayor grado de probabilidad incrementarán la lluvia hacia futuro serán aquellas ubicadas en la zona Sur de Colombia, con patrón de cosecha principal de primer semestre y la zona Oriental de Antioquia y Caldas y Noroccidental de Cundinamarca, contrario lo manifestarán las zonas cafeteras del Norte de Colombia, entre la región Centro-Occidente de Santander y La Guajira; en estas últimas zonas, el TT se muestra con incrementos de más de 125 grados/día por etapa en el escenario A2 2030, situación contrastante con el resto de las zonas cafeteras que tendrán incrementos de TT entre 105 y 125 grados/día, con los valores más bajos en zonas cafeteras del Sur de Colombia, descritas anteriormente por incrementar la lluvia.

El modelo Maxent permite explorar la tendencia futura ligada a los cambios en los elementos climáticos. Se identifica de manera consistente, cómo la aptitud disminuirá en gran parte de la zona cafetera colombiana, con mayor énfasis en aquellas áreas ubicadas hacia las zonas medias y bajas sobre las grandes cuencas hidrográficas, donde predomina hoy la caficultura a la sombra. El modelo además, muestra una tendencia de proyectar una gran pérdida de aptitud en zonas cafeteras del Sur del país en los departamentos de Huila, Cauca y Nariño, sobre las cuales los elementos climáticos asociados a los modelos en diferentes años (2030 y 2050) del escenario A2, presentan una tendencia a disminuir las condiciones de nubosidad, por efecto de mayor radiación y

temperatura, y una tendencia a aumentar la precipitación, situación contrastante con la tendencia en la disminución de aptitud, que determinaría un ajuste metodológico en los supuestos a priori del modelo.

El análisis efectuado con información de *WorldClim* permitió explorar la tendencia de los GCMs con base en indicadores bioclimáticos ajustados a los períodos fenológicas del cultivo. En esta primera etapa se trabajó con una resolución de 5,0 km y bioindicadores consolidados a nivel mensual. En próximas modelaciones se recomienda realizar un ajuste en la resolución a 2,5 km ó 1,0 km y consolidación a nivel decadal o diario, principalmente en la obtención del IHS.

El hecho que los indicadores de Tiempo Térmico tengan mayor mérito en su contribución en los modelos de aptitud, supone un ajuste en condiciones de cultivo, ya que hemos presumido varios supuestos: 1. El coeficiente del cultivo (Kc) se tomó con valor de 1, cultivos en estados de desarrollo vegetativo tendrán valores menores, entre 0,2 y 0,89 (38); 2. La temperatura base inferior, que corresponde a la temperatura por debajo de la cual el crecimiento es nulo, se determinó en 10°C (28), no obstante, ésta puede variar de acuerdo con el período fenológico. En período vegetativo para las variedades Acaia Cerrado y Rubi, desde trasplante hasta primera floración, Lima y DaSilva (38), la estimaron en 12,9°C; 3. Factores asociados a extremos térmicos o pueden causar regulación estomática (temperaturas altas) o incrementar la respiración (temperaturas muy bajas o muy altas), que disminuyen la fotosíntesis neta, situaciones que disminuirán el potencial de grados/día.

Sobre la hipótesis que la sombra suministra un ambiente más regulado, y que la información de las estaciones climáticas se obtiene

en sitios despejados, es posible que los valores de aptitud en muchas regiones mejoren, presumiendo que otros aspectos relacionados con las condiciones de suelo y manejo, entre otros, no son limitantes. Para este último aspecto será importante abordar investigaciones que incluyan la adaptación de genotipos, arreglos espaciales de la sombra y del cultivo, dinámica de los nutrientes y del agua, entre otros, que garanticen una sostenibilidad y permitan afrontar los retos que impone la variabilidad climática.

A partir de la generación de información agroclimática, adicionalmente a la que tiene cada predio cafetero, relacionada con su estructura de producción, es posible construir un marco de referencia para la planificación actual y futura, que garantice un ajuste escalonado del sistema productivo. Es importante abordar las metodologías dando mayor énfasis al concepto experto, que permita construir un marco metodológico y soportar las decisiones con mejor criterio.

AGRADECIMIENTOS

A la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, en especial al doctor Fernando Gast, exdirector de Cenicafé. Al grupo de profesionales del Proyecto DAPA del CIAT a cargo del doctor Andrew Jarvis. Al especialista en sistemas de información geográfica Audberto Quiroga, que participó en el desarrollo metodológico de construcción de los indicadores bioclimáticos, elaboración de los procesos batch para modelación con Maxent y construcción de mapas temáticos.

LITERATURA CITADA

1. ARCILA, J.; BUHR, L.; BLEIHOLDER, H.; HACK, H.; WICKE, H. Application of the "extended BBCH - scale" for the description of the growth stages of

- coffee (*Coffea* sp.). Chinchiná : Cenicafé, 2001. 32 p. (Boletín Técnico No. 23).
2. ARCILA P., J.; JARAMILLO R., A.; BALDIÓN, J.V.; BUSTILLO P., A.E. La floración del café y su relación con el control de la broca. Chinchiná : Cenicafé, 1993. 6 p. (Avances Técnicos No. 193).
 3. ARCILA P., J.; JARAMILLO R., A. Relación entre la humedad del suelo, la floración y el desarrollo del fruto del café. Chinchiná : Cenicafé, 2003. 8 p. (Avances Técnicos No. 311).
 4. BAKER, P.; HAGGAR, J. Global warming: The impact on global coffee. Long Beach : SCAA, 2007. 14 p.
 5. BEER, J.; MUSCHLER, R.; KASS, D.; SOMARRIBA, E. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agroforestry systems* 38(1):139-164. 1998.
 6. CAMAYO, G.; CHAVES, B.; ARCILA P., J.; JARAMILLO R., A. Desarrollo floral del café y su relación con las condiciones climáticas de Chinchiná, Caldas. *Cenicafé* 54(1):35-49. 2003.
 7. CARAMORI P., A. FILHO; MORAIS, H. FILHO; DUQUIA, C. Sistema de aleta pars geadas na cafeicultura do Paraná. *Informe agropecuario* 28(241):66-71. 2007.
 8. CASTELLANOS, E.; TUCKER, C.; EAKIN, H.; MORALES, H.; BARRERA, J.; DÍAZ, R. Assessing the adaptation strategies of farmers facing multiple stressors: Lessons from the coffee and global changes project in Mesoamerica. *Environmental science and policy* 26:19-28. 2013.
 9. CEPAL; CAC; SICA. Impactos potenciales del cambio climático sobre el café en Centroamérica [En línea]. México : CEPAL, 2014. 129 p. Disponible en internet: <https://www.cepal.org/es/publicaciones/37456-impactos-potenciales-cambio-climatico-cafe-centroamerica>. Consultado el 16 de abril de 2018.
 10. EAKIN, H.; TUCKER, C.; CASTELLANOS, E. Responding to the coffee crisis: A pilot study of farmers' adaptations in Mexico, Guatemala and Honduras. *The geographical journal* 172(2):156-71. 2006.
 11. ELITH, J.; GRAHAM, C.H. Do they? How do they? Why do they differ? On finding reasons for differing performances of species distribution models. *Ecography* 32(1):66-77. 2009.
 12. FNC. Documento estratégico sostenibilidad de la caficultura colombiana: Diagnóstico climático, alternativas de adaptación para la caficultura. Bogotá : FNC, 2011. 36 p.
 13. FNC. Sistema de información cafetera SICA. [En línea]. Bogotá : FNC, 2013. Disponible en internet: http://www.federaciondecafeteros.org/particulares/es/servicios_para_el_cafetero/sistema_de_informacion_sica/. Consultado el 30 de agosto de 2013.
 14. FNC. Fenómeno de El Niño afecta caficultura colombiana: Al grano. [En línea]. Bogotá : FNC, 2015. 31 p. Disponible en internet: http://www.federaciondecafeteros.org/algrano-fnc-es/index.php/comments/fenomeno_de_el_nino_afecta_caficultura_colombiana.
 15. GARCÍA L., J.C. Dominios de recomendación y representatividad de las estaciones experimentales de Cenicafé. Manizales : Universidad de Caldas, 2013. Tesis: Doctorado.
 16. GÓMEZ G., L.; CABALLERO R. A.; BALDIÓN R., J.V. Ecotopos cafeteros de Colombia. Bogotá : CENICAFE : FNC, 1991. 138 p.
 17. HAGGAR, J.; SCHEPP, K. Coffee and climate change desk study: Impacts of climate change in four pilot countries of the coffee and climate initiative. Hamburg : Coffee and climate, 2011. 78 p.
 18. HIJMANS, R.; CAMERON, S.; PARRA, J.; JONES, P.; JARVIS, A. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology* 25(15):1965-1978. 2005.
 19. IDEAM; PNUD; MADS; CANCELLERIA. Escenarios de cambio climático para precipitación y temperatura para Colombia 2011-2100. [En línea]. Bogotá : IDEAM, 2015. 278 p. Disponible en internet: <http://www.pronosticosyalertas.gov.co/web/cambio-climatico/comunicacion-nacional-bur-2015?inheritRedirect=true>. Consultado el 16 de abril de 2018.
 20. IDEAM; PNUD; MADS; GEF. Segunda comunicación nacional ante la convención marco de las Naciones Unidas sobre cambio climático. [En línea]. Bogotá : IDEAM, 2010. 73 p. Disponible en internet: <http://www.pronosticosyalertas.gov.co/web/cambio-climatico/comunicacion-nacional-bur-2015?inheritRedirect=true>. Consultado el 16 de abril de 2018.
 21. IDEAM. Boletín informativo sobre el monitoreo de los fenómenos de variabilidad climática “El Niño” y “La Niña. [En línea]. Bogotá : IDEAM, 2016.

- Disponible en internet: www.pronosticosyalertas.gov.co/web/pronosticos-y-alertas/pronosticos-alertas/fenomenos-el-nino-y-la-nina. Consultado el 16 de abril de 2018.
22. IPCC. Escenarios de emisiones resumen para responsables de políticas: Informe especial del grupo de trabajo III del IPCC. Ginebra : IPCC, 2000. 27 p.
 23. IPCC. Cambio climático 2007 informe de síntesis: Contribución de los grupos de trabajo I, II y III al cuarto informe de evaluación del grupo intergubernamental de expertos sobre el cambio climático. Ginebra : IPCC, 2007. 104 p.
 24. IPCC. Cambio climático 2014 impactos, adaptación y vulnerabilidad: Resumen para responsables de políticas. [En línea]. Suiza : IPCC, 2014. p. 34. Disponible en internet: https://www.ipcc.ch/report/ar5/wg2/index_es.shtml.
 25. JARAMILLO R., A.; ARCILA P., J. Variabilidad climática en la zona cafetera colombiana asociada al evento de El Niño y su efecto en la caficultura. Chinchiná : Cenicafé, 2009. 8 p. (Avances Técnicos No. 390).
 26. JARAMILLO R., A.; ARCILA P., J. Variabilidad climática en la zona cafetera colombiana asociada al evento de La Niña y su efecto en la caficultura. Chinchiná : Cenicafé, 2009. 8 p. (Avances Técnicos No. 389).
 27. JARAMILLO R., A.; CHAVES, B. Distribución de la precipitación en Colombia analizada mediante conglomeración estadística. Cenicafé 51(2):102-13. 2000.
 28. JARAMILLO R., A.; GUZMÁN, O. Relación entre la temperatura y el crecimiento en *Coffea arabica* L., variedad caturra. Cenicafé 35(3):57-65. 1984.
 29. JARAMILLO R., A. Climatología de la región andina de Colombia: Microclima y fenología del cultivo del café. Chinchiná : Cenicafé, 1999. 156 p.
 30. JARAMILLO R., A. Distribución de la lluvia dentro de los cafetales. Chinchiná : Cenicafé, 1999. 4 p. (Avances Técnicos No. 262).
 31. JARAMILLO R., A. Clima andino y café en Colombia. Chinchiná : FNC : Cenicafé, 2005. 195 p.
 32. LÄDERACH, P.; HAGGAR, J.; LAU, C.; EITZINGER, A.; OVALLE, O.; BACA, M.; Café mesoamericano: Desarrollo de una estrategia de adaptación al cambio climático: CIAT políticas en síntesis. Palmira : CIAT, 2011. 4 p.
 33. LÄDERACH, P.; KATHLEEN, S.; RAMÍREZ, J.; JARVIS, A.; EITZINGER, A. Impacto del cambio climático para el cultivo de café en Nicaragua. En: MARTÍNEZ, C. Adaptación al cambio climático y servicios ecosistémicos en América Latina. Turialba : CATIE, 2010. 14 p.
 34. LÄDERACH, P.; LUNDY, M.; JARVIS, A., J.R.; PÉREZ, P.; SCHEPP, K. Predicted impact of climate change on coffee-supply chains. En: LEAL, F.W. The economic, social and political elements of climate change. Verlag : Springer, 2010. 19 p.
 35. LÄDERACH, P.; MARTÍNEZ, A.; SCHROTH, G.; CASTRO, N. Predicting the future climatic suitability for cocoa farming of the world's leading producer countries, Ghana and Côte d'Ivoire. Climatic change 119(3/4):841-854. 2013.
 36. LÄDERACH, P.; ZELAYA, C.; OVALLE, O.; GARCÍA, S.; EITZINGER, A.; BACA, M. Escenarios del impacto del clima futuro en áreas de cultivo de café en Nicaragua. Cali : CIAT, 2012. 32 p.
 37. Cafeteros recibirán más recursos para mitigar efectos de la sequía. [En línea]. En: La opinión. Cúcuta, Abril 25, 2016. Disponible en internet: <https://www.laopinion.com.co/economia/cafeteros-recibiran-mas-recursos-para-mitigar-efectos-de-la-sequia-110744#ATHS>. Consultado el 16 de abril de 2018.
 38. LIMA, E.; SILVA, E. DA. Temperatura base, coeficientes de cultura e graus-día para cafeeiro arábica em fase de implantacao. Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental 2(3):266-73. 2007.
 39. LIN, B. Agroforestry management as an adaptive strategy against potential microclimate extremes in coffee agriculture. Agricultural and forest meteorology 144(1/2):85-94. 2007.
 40. MONTÓYAR, E.C.; ARCILAP, J.; JARAMILLO R., A.; RIAÑO H., N.M.; QUIROGA Z., F.A. Modelo para simular la producción potencial del café en Colombia. Chinchiná : Cenicafé, 2009. 52 p. (Boletín Técnico No. 33).
 41. MORALES, M.; VIRGINNIO, E.; LEÓN, C.; TINOCO, J.; HILLS, T.; VÁZQUEZ A. Estrategia del sector cafetalero para la adaptación, mitigación y reducción de la vulnerabilidad ante el cambio climático en la sierra madre de Chiapas. México : CATIE : FUNCAFOR : UACH : CI VA : CONANP : COMCAFE : PNUD : FIECH : SEMAHN. 2011. 79 p.
 42. MUÑOZ, L. La inestabilidad climática. [En línea]. Bogotá : FNC, 2013. Disponible en internet:

- http://www.federaciondecafeteros.org/static/files/Editorial_la_inestabilidad_climatica.pdf. Consultado el 23 de julio de 2013.
43. OIC. Statistics on coffee. [En línea]. Bogotá : FNC, 2013. Disponible en internet: http://www.federaciondecafeteros.org/static/files/Editorial_la_inestabilidad_climatica.pdf. Consultado el 23 de julio de 2013.
 44. OVALLE, O.; LADERACH, P.; BUNN, C.; OBERSTEINER, M.; SCHROTH, G. Projected shifts in coffee arabica suitability among major global producing regions due to climate change. *Plos One* 10(4):1-13.
 45. PHILLIPS, P.; ANDERSON, R.; SCHAPIRE, R. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological modelling* 190(3/4):231-259. 2006.
 46. PHILLIPS, P.; DUDÍK, M.; SCHAPIRE, R. A maximum entropy approach to species distribution modeling. Alberta : International conference on machine learning, 2004. 8 p.
 47. RAMALHO, M.; SILVA, G.; SANTOS, L. Genetic plant improvement and climate changes. *Crop breeding and applied biotechnology* 9(2):189-195. 2009.
 48. RAMÍREZ, J.; JARVIS, A.; LADERACH, P. Empirical approaches for assessing impacts of climate change on agriculture: The EcoCrop model and a case study with grain sorghum. *Agricultural and forest meteorology* 170:67-78. 2013.
 49. RAMÍREZ, J.; JARVIS, A. Downscaling global circulation model outputs: The delta method decision and policy analysis working paper. Cali : CIAT, 2010. 17 p.
 50. RAMÍREZ, J.; SALAZAR, M.; JARVIS, A.; NAVARRO, C. A way forward on adaptation to climate change in colombian agriculture: Perspectives towards 2050. *Climatic change* 115(3/4):611-628. 2012.
 51. RAMÍREZ, V.; ARCILA, J.; JARAMILLO, A.; RENDÓN, J.; CUESTA, G.; MENZA, H. Floración del café en Colombia y su relación con la disponibilidad hídrica, térmica y de brillo solar. *Cenicafé* 61(2):132-58. 2010.
 52. RAMÍREZ, V.; JARAMILLO, A. Relación entre el índice oceánico del Niño y la lluvia, en la región andina central de Colombia. *Cenicafé* 60(2):161-72. 2009.
 53. SCHROTH, G.; LADERACH, P.; DEMPEWOLF, J.; PHILPOTT, S.; HAGGAR, J.; EAKIN, H. Towards a climate change adaptation strategy for coffee communities and ecosystems in the sierra madre de Chiapas. Mexico : Mitigation and adaptation strategies for global change 14(7):605-625. 2009.
 54. TEAM RDC R.: A language and environment for statistical computing. Vienna : R foundation for statistical computing, 2008.
 55. VAN OIJEN, M.; DAUZAT, J.; HARMAND, J.; LAWSON, G.; VAAST, P. Coffee agroforestry systems in central America: A review of quantitative information on physiological and ecological processes. *Agroforest systems* 80(3):341-359. 2010.
 56. VAN OIJEN, M.; DAUZAT, J.; HARMAND, J.; LAWSON, G.; VAAST, P. Coffee agroforestry systems in central America: Development of a simple process-based model and preliminary results. *Agroforest systems* 80(3):361-78. 2010.

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

DIRECCIÓN

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

DISCIPLINAS DE INVESTIGACIÓN

Agroclimatología

Juan Carlos García L., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Álvaro Jaramillo R., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Ninibeth Gibelli Sarmiento H., Ing. Agrícola**
Stephan Andrés Salazar A., Ing. Agrícola**
Jonniér Alejandro Hoyos A., Tecnólogo en gestión agropecuaria**
Wilmar A. Rendón G., Tecnólogo en Sistemas Informáticos
Myriam Giraldo M.
Luis Gonzaga Henao R.
Luis Fernando Torres Q.
Orlando Salazar G.

Calidad

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

Entomología

Pablo Benavides M., Ing. Agrónomo Ph.D.
Carmenza E. Góngora B., Microbióloga Ph.D.
Zulma Nancy Gil P., Ing. Agrónomo Ph.D.
Marisol Giraldo J., Ing. Agrónomo Ph.D.
Flor Edith Acevedo B., Ing. Agrónomo Ph.D.
Lucio Navarro E., Biólogo, Ph.D.
Luis Miguel Constantino C., Biólogo Entomólogo, M.Sc.
Leidy Johanna Tapias I., Química Industrial, M.Sc.
Aníbal Arcila M., Ing. Agrónomo
Ferner López F., Ing. Agrónomo/Contador
Mauricio Jiménez Q., Agrónomo
Laura Alexandra Laiton J., Ing. Agrónomo
Jorge Luis Jaramillo G., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Jesús Hernando Gómez L., Biólogo
Juan Diego Maldonado C., Biólogo
Adriana Paola Gómez C., Tecnólogo en Administración y Producción Limpia de Café
Juan Paulo Pimentel S., Tecnólogo en Administración de Empresas Agropecuarias
Diana Soraya Rodríguez A., Técnico en Producción de Café
Wilmar Osorio C., Tecnólogo en Gestión de Empresas

Agropecuarias **
Juan Carlos Ortiz F.
Carlos Alberto Quintero A.
Claudia Bibiana Tabares B.
Faber de Los Ríos P.
Diana Marcela Giraldo V.

Fisiología Vegetal

José Ricardo Acuña Z., Biólogo Ph.D.
Aristóteles Ortiz., Químico, M.Sc.
Carlos Andrés Unigarro M., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Natalia Catalina Flechas Bejarano, Bióloga
Mauricio Jiménez S., Ing. Agrónomo
Marta Bibiana Escobar P., Tecnóloga Química
Claudia Marcela Mora A.
Marlío Fernando Abella D. Agrónomo
Mario Franco A.
Claudia Patricia Valencia V.
Laura Calle González, Pasante Universitario
Sebastián Quiceno Girón, Pasante Universitario

Fitopatología

Carlos Ariel Ángel C., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Nancy del Carmen Arciniegas B., Ing. Agrónoma, M.Sc.**
Carlos Alberto Rivillas O., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Carlos Mario Calle, Ing. Agrónomo, M.Sc.
Isabel Cristina Ramírez P., Ing. Agrónomo
Carlos Alberto Zuluaga E., Técnico en Mantenimiento de Computadores y Redes de datos.
Alejandro Gallego, Tecnólogo en Gestión Agropecuaria **
Carlos Arturo González V.
Jorge Dicksson Ocampo M.
Jaroliver Cardona G.
Alexander Jaramillo J.
Angee Yulith Maya Arias, Aprendiz

Fitotecnia

Francisco Fernando Farfán V., Ing. Agrónomo, M.Sc.
José Raúl Rendón S., Ing. Agrónomo, M.Sc.
Fabio Alexis Torres A., Ing. Agrónomo, Esp.
Jorge Alexis Ramos P., Ing. Agrícola**
Cristian Salomón Rodríguez V., Ing. Agrónomo
Carlos Augusto Ramírez C., Técnico Profesional en Técnicas Forestales**
Gabriel Santiago Gil M., Tecnólogo en Producción Agrícola
Juan Gilberto Vargas P., Tecnólogo en Producción Agrícola

Mejoramiento Genético

Claudia Patricia Flórez R., Ing. Agrónomo Ph.D.
Diana María Molina V., Bacterióloga Ph.D.
María del Pilar Moncada B., Ing. Agrónomo Ph. D
Carlos Ernesto Maldonado L., Ing. Agrónomo M.Sc.*
Juan Carlos Arias S., Ing. Agrónomo M.Sc.
Andrea Valencia O., Bióloga M.Sc.

Hernando A. Cortina G., Ing. Agrónomo M.Sc
Julio Quiroga Cardona., Ing. Agrónomo M.Sc
Luisa Fernanda López M., Ing. Agrónomo
Conrado Antonio Quintero D., Administrador Financiero
Carlos Augusto Vera A., Administrador Financiero
Jairo Jaramillo O., Ing. Mecatrónica
Gilbert Rodríguez Q., Técnico Profesional en Desarrollo de Producción Pecuaria
Jhon Esteban Quintero A., Técnico en Producción de Café
Jhon Jairo Cuellar V., Tecnólogo en Producción Agrícola
Hernán Díaz C.
Cruz Elena Díaz M.
Omar Villarreal
Jesús David Gómez P., Pasante Universitario
Lorena Muñoz A., Pasante Universitario

Poscosecha

Juan Rodrigo Sanz U., Ing. Mecánico, Ph.D.
Carlos Eugenio Oliveros T., Ing. Agrícola, Ph.D.
Nelson Rodríguez V., Ing. Químico, Ph.D.
Paula Jimena Ramos G., Ing. Electrónico, Ph.D
César Augusto Ramírez G., Arquitecto, M.Sc.
Aída Esther Peñuela M., Ing. Alimentos, M.Sc.*
Juan Carlos López N., Microbiólogo, M.Sc
Diego Antonio Zambrano F., Ing. Químico
Laura Vanessa Quintero Y., Ing. Química, M.Sc
Carlos Alfonso Tibaduiza V., Ing. Agrícola, M.Sc
Cristy Mayerly González D., Ing. Ambiental
Andrés Felipe Osorio O., Ing. Químico
Ricardo José Grisales M., Tecnólogo en Electrónica
Jorge Alexander Londoño C., Técnico en Soldadura por Arco y por Soplete
Mario Espinosa G.
Javier Velásquez H.
Samuel Castañeda
Walter Mauricio Osorio O.

Suelos

Siavosh Sadeghian K., Ing. Agrónomo, Ph.D.
Hernán González O., Ing. Agrónomo, M.Sc.*
Luis Fernando Salazar G., Ing. Agrónomo, M.Sc.*
Luz Adriana Lince S., Ing. Agrónomo, Geóloga, M.Sc.
Vanessa Catalina Díaz P., Química, Esp.
Víctor Félix Alarcón T., Ing. Agrícola **
Leina Carina Vitobis A., Agrónomo
Mónica María Bedoya R., Ing. Agrónomo
Johan Cuervo Correa, Ing. Agrónomo, M.Sc.
Juan Carmilo Rey Sandoval, Ing. Agrónomo. M.Sc.
Claudia Marcela Ospina F., Tecnóloga Química
Rigoberto Ochoa I., Tecnólogo en Administración de Empresas Agropecuarias
Stephanía Rincón B., Tecnóloga Química
Sebastián García B. Tecnólogo en Gestión de Recursos Naturales
Arturo Gómez V.
Angery Daniela Córdoba Cajigas, Aprendiz

EXPERIMENTACIÓN

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

Estación Experimental Naranja

Jhon Félix Trejos P., Ing. Agrónomo**
Melsar Danilo Santamaría B., Ing. de Alimentos
Tito Alberto Ramírez S.

Estación Experimental El Tambo

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

Estación Experimental El Rosario

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

Estación Experimental La Catalina

Diego Fabián Montoya., Agrónomo
Francisco Javier Álzate O.
Vidal de Jesús Largo T.

Estación Experimental La Trinidad

Carlos Julio Ramírez Q., Ing. Agrónomo

Estación Experimental Paraguaito

Myriam Cañón H., Ing. Agrónomo**
Daniel Antonio Franco C., Agrónomo

Estación Experimental Pueblo Bello

José Enrique Baute B., Ing. Agrónomo

Estación Experimental San Antonio

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

APOYO A LA INVESTIGACIÓN

Divulgación y Transferencia

Sandra Milena Marín L., Ing. Agrónoma, M.Sc.
Jair Montoya T., Administrador de Empresas, M.Sc.
Carmenza Bacca R., Diseñadora Visual
Óscar Jaime Loaiza E., Diseñador Visual
Luz Adriana Álvarez M., Diseñadora Visual
Paula Andrea Salgado V., Administrador Financiero
Julieth Sofía Veloza B., Profesional en diseño gráfico
Paula Andrea Marroquín B., Diseñadora Gráfica
Carlos Felipe Galvis C., Aprendiz

Tecnología de la Información y Comunicaciones

Luis Ignacio Estrada H., Ing. Químico
Carlos Hernán Gallego Z., Ing. de Sistemas, Esp.**
Alma Patricia Henao T., Lic. en Lenguas Modernas, Bibliotecóloga, Esp.
Elkin Marcelo Valencia L., Ing. de Sistemas, Esp.
Daniel Orozco J., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
Leonardo Adolfo Velásquez N., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
Kevin Adolfo Hincapié V., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
Andrés Felipe Ramírez M., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.
José Rubiel Castrillón G., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones**
Auberto Quiroga M., Biólogo, Esp.
Juan Camilo Espinosa O., Ing. Topográfico, Esp.
Juan Pablo Carvajal B., Ing. Electrónico
Luz Ángela Fernández R., Licenciada en Psicopedagogía
Jorge Wilmar Valencia G., Tecnólogo en Análisis y Desarrollo de Sistemas de Información

Unidad de Gestión de Proyectos

Juan Mauricio Rojas A., Ing. Alimentos, M.Sc.
Rocío Espinosa A., Médico Veterinario y Zootecnista**
Andrés Mauricio López L., Médico Veterinario y Zootecnista**
Josué David Espitia F., Economista

UNIDAD ADMINISTRATIVA Y FINANCIERA

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

Biometría

Rubén Darío Medina R., Estadístico M.Sc.
Esther Cecilia Montoya R., Estadístico M.Sc.
Hernando García O., Ing. Agroforestal **
Lina Marcela Díaz B., Estadístico **

Economía

César Alberto Serna G., Contador, M.Sc.
Juan Carlos Gómez S., Contador, Ing. Agrónomo, M.Sc

Gestión Contable y Tributaria

Martha Elena Vélez H., Contadora, Esp.
Jesús Danilo González O., Contador, Esp.
Luis Alfredo Amaya F., Administrador Público
Daniela López O., Contadora, Esp.
Diana Marcela Buitrago R., Administración de empresas
Lina Marcela Patiño G., Tecnóloga en Gestión Administrativa
Laura Alejandra Osorio M., Aprendiz
Verónica Alejandra Velásquez B., Aprendiz
Miguel Ángel Rivera C., Aprendiz

Gestión de Bienes y Servicios Contratación

Juan David Álzate O., Economista, M.Sc.
Mauricio Loaiza M., Ing. Industrial
Juan Manuel Meza S., Administrador de empresas, Esp.
Lina María Giraldo, Administrador financiero
Diego Alejandro Muñoz G., Economista
Luz Stella Duque C., Tecnóloga en Administración de Negocios

Jesús Alberto Vergara T., Técnico en Sistemas
Gabriel Antonio Melo P.
Francy Giraldo Gutiérrez, Aprendiz

Gestión de Bienes y Servicios-Mantenimiento

Óscar Fernando Ramírez C., Ing. Mecatrónico**
Paulo Alejandro Arias C., Ing Electricista, Esp.
Cristian Andrés Chica G., Ing. Mecatrónica
Robinson Guzmán G., Técnico Electricista
Jorge Hernán Marulanda E., Tecnólogo en Electrónica
Javier Vanegas V., Técnico Electricista
Gabriel Hernando Ortiz C., Tecnólogo en Gestión Bancaria y Financiera
Albert Johanne Agudelo L. Tecnólogo en Electrónica
Uriel López P.
Rogelio Rodríguez G.
Eduardo Villegas A.
Fredy Hernán Osorio C.
Jhon Fredy Rojo G.
Jorge Eduardo Sepúlveda V.
Jorge Antonio Arias A.
Carlos Andrés Hernández G.
Fabián Sánchez L.
Mario López L.

Gestión de Tesorería

Carlos Andrés Pineda M., Contador Esp.

Gestión del Talento Humano

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

Planeación Financiera y Presupuesto

Jesús Alberto Cardona L., Ing. Industrial, M.Sc. PMP®
Juan Manuel Muñoz O., Administrador de empresas, M.Sc
Valentina Sepúlveda C., Ingeniera Industrial, Esp. PMP®
Astrid Yuliana Ortiz R., Administradora de Empresas, Esp.

* Comisión de estudios

** Adelantando estudios en el país

Instructivo para la elaboración de los artículos de la Revista Cenicafé

TEXTOS

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

TABLAS Y FIGURAS

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

ECUACIONES

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

SISTEMA DE UNIDADES

- En los productos de investigación a divulgar se utiliza exclusivamente el Sistema Métrico Decimal (SI), además de las unidades específicas de mayor uso por parte de la comunidad científica.
- Los puntos de multiplicación y los números superíndice negativos pueden ser usados solamente con unidades del SI (por ejemplo, $m^3 \cdot s^{-1}$ y no m^3s^{-1} , que podría indicar milisegundos).

- No se debe interrumpir la notación de unidades del SI con símbolos que no corresponden a unidades del sistema internacional ni con palabras diferentes, porque las unidades son expresiones matemáticas. Reordene la frase apropiadamente, por ejemplo así:
 - _ El rendimiento en peso seco fue de 5 g.día⁻¹, y no 5 g de peso seco.día⁻¹
 - _ Se aplicaron 25 g.ha⁻¹ del ingrediente activo, y no 25 g i.a./ha
 - _ Cada planta recibió 20 g.ha⁻¹ de agua, y no 20 g H₂O/ha por planta
- Use la línea oblicua o *slash* (/) para conectar unidades del SI con unidades que no son del SI (por ejemplo: 10 °C/h ó 10 L/materia)
- Nunca use el punto elevado (.) y el *slash* en la misma expresión. Si se hallan mezcladas unidades del SI con unidades que no son del SI, use primero el slash y luego la palabra 'por' en segundo término.
- Nunca utilice dos o más líneas oblicuas o *slashes* (/) o la palabra 'por' más que una vez en la misma frase, pues estos dos términos son equivalentes; por ejemplo en cepilladas/día por planta, redacte la frase así: cada planta fue cepillada dos veces al día. Para unidades totalmente verbales, use un slash, como en 3 flores/planta ó 10 frutos/rama
- Use la misma abreviatura o símbolo para las formas en singular o plural de una unidad determinada (por ejemplo, 1 kg y 25 kg). Deje un espacio entre el valor numérico y el símbolo (por ejemplo, 35 g y no 35g). En una serie de medidas ponga la unidad al final (excepto para el signo de porcentaje) así: entre 14 y 20°C o hileras a 3, 6 y 9 m, pero 14%, 16% y 18%
- En las publicaciones se emplea la coma (,) para separar decimales y el punto (.), para separar miles y millones

BIBLIOGRAFÍA

Antes de enviar las propuestas de publicaciones tenga en cuenta los siguientes modelos para citar las bibliografías, de acuerdo con los criterios determinados por el Comité Editorial de Cenicafé.

Libros, folletos y monografías

- Autor(es) . Título : Subtítulo. No. de edición. Pie de imprenta (Ciudad : Editorial, Fecha). No. total de págs.

Partes o capítulo de un libro

- Autor(es) del capítulo o parte. Título del capítulo o parte : Subtítulo. Paginación de la parte citada. En: Compilador(es) o editor(es) del trabajo general . Título del trabajo general: Subtítulo. No. de edición. Pie de imprenta (Ciudad : Editorial, Fecha). No. total de págs. del libro.

Ponencias

- Autor(es) ponencia, congreso, etc . Título de la ponencia, etc. : Subtítulo. Paginación de la parte citada. En: Título oficial del congreso, simposio, etc . (No. arábigo correspondiente al congreso : fecha y año de realización : ciudad donde se realizó). Pie de imprenta (Ciudad : Editorial, Fecha). No. total de págs.

Trabajos de grado

- Autor(es) del trabajo. Título : Subtítulo. Ciudad : Institución universitaria que otorga el título. Facultad o Escuela, Fecha. No. total de págs. Trabajo de grado: título recibido.

Congresos, Seminarios, Simposios

- Nombre del congreso en mayúscula sostenida la primera palabra : Memorias, Actas, Procedimientos, etc. (No. Arábigo correspondiente al congreso : fecha y año de realización : ciudad donde se realizó). Pie de imprenta (Ciudad : Editorial, Fecha). No. total de págs.

Artículos de revistas

- Autor(es) . Título del artículo : Subtítulo . Título de la revista. Volumen(número):Pág. inicial-pág.final del artículo. Año

Separatas y reimpresos

- Autor(es). Título de la separata : Subtítulo. En: Título de la publicación de la cual se extrae la separata Pie de imprenta (Ciudad : Editorial, Fecha) si es un libro, o, Volumen y/o número si es una revista Año. (separata). No. Total de págs.

Boletines y Publicaciones en serie

- Autor(es) . Título : Subtítulo . Pie de imprenta (Ciudad : Editorial, Fecha). No. total de págs. (Avances Técnicos, Boletín Técnico, Circular, etc. No. 00).

Normas

- Autor(es). Título : Subtítulo. Pie de imprenta (Ciudad : Editorial, Fecha). (NTC 000). No. de págs.

Documentos electrónicos

- Autor(es). Título : Subtítulo. [En línea]. Lugar de publicación : Publicador, fecha. Disponible en internet: <http://www. ...> . Parte de un documento electrónico o registro de base de datos Consultado el ...Fecha de la consulta.

ESTRUCTURA DEL ARTÍCULO CIENTÍFICO

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

Título – Máximo 16 palabras

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

Resumen – Máximo 250 palabras

- El resumen debe señalar de manera concisa los objetivos, resultados y conclusiones del estudio.
- No debe contener referencias bibliográficas
- Su contenido se debe entender sin tener que recurrir al texto, tablas y figuras
- Al final del resumen deben incluirse de 3 a 6 palabras claves que describan los tópicos más importantes del trabajo, con el fin de facilitar la inclusión en los índices internacionales; las palabras claves no deben estar incluidas en el título

Abstract - Máximo 250 palabras

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

Introducción - Máximo 1.000 palabras

Debe incluir:

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

Materiales y métodos - Máximo 1.100 palabras

Debe escribirse de tal manera que un investigador con conocimiento del tema pueda repetirlo, que informe al lector cómo fue realizado el estudio y proporcione suficiente información para interpretarlo y evaluarlo.

Esté seguro de no omitir información que pueda afectar la interpretación de los resultados, es decir:

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

- Siempre use el tiempo pasado
- Defina técnicamente las variables y cómo se obtienen
- Describa el diseño experimental o soporte estadístico, de acuerdo con el tipo de investigación
- Describa el análisis de la información
- Describa los criterios de decisión

Resultados y discusión – Máximo 2.500 palabras

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

- Presente los datos en la secuencia abordada en la metodología
- Use tablas o figuras (ilustraciones y gráficas)
- No repita los datos en distintas formas. O están en figuras o en las tablas o en el texto
- Si el contenido total de la tabla puede ser descrito con claridad en el texto, no la presente. La tabla debe contener, al menos una medida de tendencia central, una medida de dispersión o intervalo de confianza, si requiere la prueba de comparación estadística. Al pie de la tabla indicar la prueba de comparación, con su nivel de significación y la descripción de las abreviaturas utilizadas en ella
- Utilice la figura para ilustrar en forma rápida un resultado complejo
- En el caso de ilustrar promedios, utilice los intervalos de confianza. No incluya en las figuras los datos de promedios ni las letras asociadas a la prueba de comparación
- En una misma figura no incluya dos variables dependientes diferentes. Utilice correctamente el plano cartesiano
- Las descripciones de figuras y tablas deben contener la información suficiente para entender los resultados descritos en ellas, sin tener que acudir al texto
- El mensaje central debe ser suficientemente claro
- Indique la aplicación de los resultados
- Interprete los resultados
- Discuta hechos controversiales con objetividad
- Permítale al lector seguir su línea de pensamiento
- Identifique resultados que abran nuevas posibilidades de estudio
- No se sienta obligado a escribir una explicación positiva para cada faceta del estudio
- Nunca utilice “se necesita hacer más trabajo. . .”
- No haga discusión trivial

Agradecimientos – Máximo 70 palabras

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

Literatura citada

- Se deben colocar en esta Sección sólo las referencias citadas
- No más de 50 citas bibliográficas
- La literatura se debe organizar en estricto orden alfabético y se debe enumerar siguiendo un orden ascendente Las referencias deben citarse en el texto utilizando el número correspondiente al orden alfabético

PRODUCCIÓN EDITORIAL

Secretaría Técnica Comité Editorial,
revisión de textos y corrección de estilo: Sandra Milena Marín López Ing. Agr. MSc.

Diseño y diagramación: Luz Adriana Álvarez Monsalve.

Fotografías: Archivo Cenicafé

Impresión:

1.200 ejemplares

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



Cenicafé

Al servicio de los caficultores colombianos, desde 1938

www.cenicafe.org