

**Comportamiento y eficiencia de polinización del abejorro *Bombus atratus*  
(Hymenoptera: Apidae) en plantas de pimentón (*Capsicum annum*) sembrado bajo  
invernadero.**

**Presentado por**

**Johanna Pacateque Espinoza**

**Director**

**Jose Ricardo Cure Hakim Ph.D.**

**Co-Director**

**Diego Riaño Jiménez M.Sc.**

## Contenido

1.	INTRODUCCIÓN .....	5
2.	MARCO TEÓRICO.....	6
2.1	Género <i>Bombus</i> .....	6
2.1.1	Generalidades .....	6
2.1.2	Los abejorros como polinizadores de cultivos .....	7
2.1.3	<i>Bombus atratus</i> : especie nativa promisorio.....	8
2.2	El pimentón ( <i>Capsicum annuum</i> ).....	10
2.2.1	Generalidades del cultivo de pimentón ( <i>Capsicum annuum</i> ).....	10
2.2.2	Morfología y Desarrollo Floral.....	10
2.2.3	Factores que afectan la Floración .....	12
2.3	Polinización del cultivo de pimentón .....	13
3.	OBJETIVOS .....	14
3.1	General.....	14
3.2	Específicos .....	14
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
4.1	Desarrollo floral del pimentón .....	15
4.1.1	Material Vegetal.....	15
4.1.2	Caracterización de los estados florales flores del pimentón. ....	16
4.1.3	Receptividad del estigma .....	16
4.1.4	Volumen de néctar.....	16
4.2	Comportamiento de obreras de <i>B. atratus</i> en el cultivo de pimentón.....	17
4.2.1	Material Vegetal.....	17
4.2.2	Cría de colonias de <i>B. atratus</i> .....	17
4.2.3	Localización de las colonias de <i>B. atratus</i> .....	18
4.3	Toma de datos del comportamiento de forrajeo de <i>B. atratus</i> .....	18
4.4	Efecto de la polinización por <i>Bombus atratus</i> en pimentón.....	19
4.4.1	Fase de Campo .....	19
	Frutos producto de autopolinización .....	19

Frutos producto de la visita de obreras de <i>Bombus atratus</i> .....	20
4.4.2 Fase de Laboratorio.....	20
5. RESULTADOS .....	21
5.1 Desarrollo floral del pimentón <i>Capsicum annum</i> .....	21
5.2 Comportamiento de la visita floral de las obreras de <i>B. atratus</i> .....	25
5.3 Efecto de la polinización de <i>B. atratus</i> en el pimentón .....	27
5.3.1 Largo del Fruto .....	27
5.3.2 Peso Seco.....	28
5.3.3 Número de semillas.....	29
5.3.4 Malformaciones .....	29
6. DISCUSIÓN.....	31
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	34
8. BIBLIOGRAFÍA .....	35
9. ANEXOS (Tablas de los análisis estadísticos).....	42
9.1 Receptividad del Estigma .....	42
9.2 Producción de Néctar.....	42
9.3 Producción de Semilla .....	42
9.4 Producción de Largo.....	42
9.5 Peso Seco.....	43
9.6 Malformaciones .....	43

## Tabla de Figuras

<b>Figura 1:</b> Diferentes Formas de Crecimiento del pimentón (FAO, 2002) .....	11
<b>Figura 2:</b> Partes de la flor A: Constricción por la bifurcación, B: Cáliz y corola, C: Corola, D: Gineceo y Androceo y E: Anteras y filamentos .....	12
<b>Figura 3:</b> Diagrama del área y distribución de siembra del cultivo de pimentón var Quetzal, mantenido bajo invernadero en Cajicá, Cundinamarca. ....	15
<b>Figura 4:</b> Diagrama del área y distribución de siembra del cultivo de pimentón var Robledo, mantenido bajo invernadero .....	17
<b>Figura 5:</b> Ubicación de las colonias de <i>B. atratus</i> en el cultivo de pimentón Var. Robledo en Sáchica, Boyacá. ....	18
<b>Figura 6:</b> Esquema de estratificación de recolección de Frutos visitados como polinizados .....	19
<b>Figura 7:</b> Proporción de flores con estigmas receptivos en flores de pimentón variedad Quetzal en los tres estadios de flor abierta en dos momentos diferentes.....	24
<b>Figura 8:</b> Volumen promedio de néctar en cada estadio de Flor Abierta de pimentón.....	24
<b>Figura 10:</b> Comportamiento de Visita corta de obreras de <i>B. atratus</i> en la flor de pimentón (Fotos Riaño D., 2011) .....	26
<b>Figura 11.</b> Proporción de visita de <i>B. atratus</i> observados en los diferentes estadios de flor abierta descritos en la flor de pimentón. ....	27
<b>Figura 12:</b> Longitud promedio de frutos polinizados y no polinizados de pimentón en tres estratos diferentes.....	28
<b>Figura 13:</b> Peso seco de frutos no polinizados y polinizados de pimentón var Robledo... ..	29
<b>Figura 14:</b> Cantidad de semillas producidas por frutos de pimentón no polinizados y polinizados por <i>B. atratus</i> .....	29
<b>Figura 15.</b> Porcentaje de malformación de frutos producto de flores autopolinizadas de pimentón en los tres estratos evaluados. ....	30

## Contenidos de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Efecto de la polinización mediada por <i>B terrestris</i> en el número de semillas producidas en el pimentón. ....	13
<b>Tabla 2.</b> Caracterización de los estadios florales del pimentón. ....	21

## 1. INTRODUCCIÓN

La polinización mediada por insectos es reconocida como uno de los mecanismos que además de facilitar la reproducción de muchas plantas y favorecer la variabilidad genética en los ecosistemas sostiene la vida humana (Daily, 1997; Allen-Wardel, *et al.*, 1998; Arizmendi, 2009). Más del 66% de los 1500 cultivos comerciales a nivel mundial dependen de la polinización mediada por las abejas (Kremen *et al.*, 2002. Mineau *et al.*, 2008). La polinización es el paso del polen contenido en las anteras al estigma de las flores. Este proceso contribuye a la formación de las semillas y frutos. En el proceso evolutivo en el que tanto la planta como la abeja se ven favorecidos (mutualismo) y es crucial para la producción de frutos (Kevan, 1991). La producción de un cultivo está determinada por la cantidad de frutos producidos y su calidad (tamaño, forma, peso, etc.). Estas dos variables dependen de una polinización eficiente que en muchos casos es mediada por insectos, a lo que se le conoce como entomofilia. Este hecho hace que los insectos sean considerados actores fundamentales en los sistemas de producción (Oliveira, 1997). Este proceso biológico ha tenido un impacto económico importante a nivel mundial para la agricultura. Según el instituto Nacional Francés de Investigación Agronómica el aporte de los polinizadores en la agricultura asciende a más de USD 200.000 millones anuales. Entre los polinizadores, las abejas han sido reconocidas como uno de los grupos más importantes debido a su dependencia por los recursos que ofrecen las flores (polen y néctar) (Osorno y Osorno, 1938; Thomson, 1983; Velthuis y Van Doon, 2006). Este hecho favoreció la implementación de estrategias de polinización dirigida de cultivos con diferentes especies de abejas en países como Alemania, España, Holanda, Brasil entre otros, convirtiéndose en una práctica común en los cultivos (Delaplane y Mayer, 2000. Velthuis y van Doorn, 2006). En la actualidad algunas especies del género *Bombus*, especialmente *B. terrestris*, *B. occidentalis* y *B. impatiens* han sido utilizadas ampliamente como polinizadores de cultivos como tomate, pimentón, fresa, entre otros por el incremento en su productividad (Free, 1970; Kevan *et al.*, 1991; Schoonhoven *et al.*, 1998; Velthuis y van Doorn, 2006; Winter *et al.* 2006). A pesar de su importancia, la introducción de algunas especies del género *Bombus* a zonas donde no ocurrían naturalmente tuvo un impacto negativo en las poblaciones tanto de plantas como de abejas nativas (Nates y González, 2000; Nates y Parra, 2006). Teniendo en cuenta el riesgo que tiene la introducción de abejas foráneas y el efecto positivo que tiene el uso de colonias de abejas en los cultivos, muchos países iniciaron el estudio de especies nativas

que tengan el mismo impacto en los sistemas de producción agrícola (Asada y Onno, 1996; Estay *et al.*, 2001).

En Colombia se han adelantado importantes estudios en la biología, ecología, cría en cautiverio y semicautiverio y la implementación de colonias de la especie nativa *Bombus atratus* para la polinización dirigida en cultivos experimentales de lulo, uchuva, fresa y mora (Cruz *et al.*, 2007) y en cultivos comerciales de tomate. En el caso del tomate los estudios han demostrado un incremento cercano al 30% en la producción (Aldana, 2007). El efecto positivo de las colonias de *B. atratus* en los cultivos hacen de esta una especie promisoría como agente polinizador de frutales y hortalizas. Actualmente el cultivo del pimentón es considerado una hortaliza promisoría en nuestro país (Cabrera y Salazar, 2004), sin embargo la producción es baja comparada con la de otros países, principalmente debido a la poca tecnificación que presentan los cultivos, incluyendo la falta de estrategias de polinización (Almanza *et al.* 2008). Al igual que muchas otras plantas, la flor del pimentón depende de la polinización cruzada, mediada en su mayoría por insectos (Delaplane y Mayer, 2000). Debido a esta dependencia, si las flores no son polinizadas correctamente se producirán frutos deformes y con pocas semillas lo cual afecta directamente la productividad del cultivo. Por lo tanto existe la necesidad de desarrollar estrategias de polinización dirigida en este cultivo para las condiciones de nuestro país.

El presente trabajo evaluó el efecto de la polinización de la especie *Bombus atratus* en el cultivo de pimentón (*Capssicum annum*) sembrado bajo invernadero. Así mismo representa una contribución al conocimiento del comportamiento, desarrollo y supervivencia de las colonias de *B. atratus* bajo condiciones de invernadero y su adaptación en este cultivo.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Género *Bombus***

#### **2.1.1 Generalidades**

Los abejorros del género *Bombus* hacen parte de la Tribu Bombini la que a su vez hace parte de la Familia Apidae. Actualmente se han descrito 250 especies clasificadas y agrupadas en 39 subgéneros (Michener, 2000; Abrahamovich *et al.*, 2004)

El género *Bombus* es relativamente homogéneo en el comportamiento, ecología y morfología, a pesar que su distribución que va desde el ártico hasta el trópico (Lavery y Plowright, 1985). La mayor cantidad de las especies se encuentran restringidas en las zonas templadas de Norteamérica y Eurasia (Abrahamovich *et al.*, 2004).

En el ciclo de desarrollo de colonias de abejorros del género *Bombus*, existen tres fases: fase solitaria, fase subsocial y fase social. En la primera fase, la reina es fecundada por el macho y busca un sitio donde nidificar; en la segunda, la reina inicia la construcción de su nido ovipositando la primera celda de huevos y se encarga de recolectar el néctar y el polen y la última etapa se caracteriza por que las obreras se encargan de las actividades de forrajeo y mantenimiento de la colonia. Durante esta etapa la reina fundadora pasa por una etapa de transición llamada momento de cambio (“switchpoint”) en el que se producen los sexuales (Michener, 2000). En zonas templadas, las colonias son anuales, dado que la reina requiere de un periodo de hibernación por lo que estas fases se dan una vez al año (Pry-Jones y Corbet, 1991). Para las especies de zonas tropicales, las reinas no requieren del periodo de hibernación y se pueden presentar estas y otras etapas varias veces al año dependiendo de la especie (Cameron y Jost, 1998). Los individuos de la colonia tienen una metamorfosis completa que consta del estadio de huevo, tres instares larvales, prepupa, pupa y adulto (Goulson, 2003). Los adultos se diferencian en castas: obreras y reinas. Dentro de las obreras hay dos clases, las que se quedan al cuidado de la cría y las que se encargan de traer el alimento a la colonia. Los machos por su parte, son los encargados de fecundar a la reina, que a su vez se encarga de la oviposición permitiendo así el crecimiento de la colonia (Pry-Jones y Corbet, 1991).

Para Sur América, se han reportado 42 especies, ocupando hábitat muy diferentes desde las planicies amazónicas a las alturas de los Andes (Abrahamovich *et al.*, 2002). En Colombia se han reportado 9 especies: *Bombus atratus*, *Bombus excellens*, *Bombus pullatus*, *Bombus transversalis*, *Bombus funebris*, *Bombus robustus*, *Bombus hortulanus*, *Bombus rubicundus* y *Bombus melaleucus* de los cuales 6 se encuentran en el Piso Montano en una alturas de 1.400-1.500 m y 3 tienen un carácter Andino con una altura de 2.00-2.200m (Liévano *et al.*, 1991).

### **2.1.2 Los abejorros como polinizadores de cultivos**

Los abejorros del género *Bombus* son considerados polinizadores eficientes comparados con otras especies de abejas. Características como su gran tamaño, la capacidad de

extraer polen de anteras tubulares mediante vibración de los músculos alares, su abundante pilosidad y la capacidad de tener actividad en condiciones ambientales principalmente de temperatura y luminosidad, en las que otras especies no tienen actividad. Hacen de las especies de este género polinizadores eficientes comparados con otras abejas (Corbet, *et al*, 1995; Velthius y van Doorn, 2006).

Estas características impulsaron el desarrollo de técnicas de cría de colonias de *Bombus* con el propósito de incluirlas en programas de polinización de cultivos. Comercialmente, el uso de colonias de abejorros inició en 1989, año durante el cual se produjeron 1.000 colonias, para el año 1992 la industria alcanzó las 250.000 colonias y para el 2004 se produjeron 1.000.000 de colonias a nivel mundial. El valor resultante de la comercialización de las colonias sumado a su efecto en los cultivos para el año 2004 fue de 12.000 millones de Euros (Velthius y van Doorn, 2006).

Actualmente son varias las especies que están disponibles comercialmente para la polinización de diferentes cultivos como lo son *Bombus terrestris* para Europa y Asia, *Bombus canariensis* para las Islas Canarias, *Bombus impatiens* para Norte y Sur América (Velthius y van Doorn, 2006; Vergara, 2008; Torres *et al.*, 2013). Su utilización en los cultivos ha favorecido el incremento de la producción de estos y disminuido los costos de las labores culturales de polinización mecánica (Velthius y van Doorn, 2006).

La especie bandera como agente polinizador de cultivos a nivel mundial es *Bombus terrestris*, ampliamente distribuida en Europa y la primera en criarse en condiciones de cautiverio (Velthius y van Doorn, 2006).

En varios países se utilizan con éxito especies de abejorros del género *Bombus* para la polinización del cultivo del tomate, reportándose incrementos de productividad hasta del 40% (Aldana, 2007). En nuestro país Almanza (2007) mostró el efecto positivo de *Bombus atratus* sobre el número de semillas y la calidad del fruto en lulo y Zuluaga y Aguilar (2010), evidenciaron que la visita de *Bombus atratus* en el cultivo de mora mejora la productividad en la calidad del fruto.

### **2.1.3 *Bombus atratus*: especie nativa promisoría**

El rápido desarrollo de la industria productora de colonias de *Bombus* y el efecto en la producción de los cultivos, impulsó a varios países para permitir la introducción de las especies disponibles comercialmente, particularmente *B. terrestris* (Ruiz y Herrera, 2001).



Han sido varios los trabajos que muestran el impacto que tienen las introducciones de esta especie en las poblaciones de las abejas nativas y consecuentemente en la flora (Ruiz y Herrera, 2001). Las especies introducidas compiten por recursos o sitios de nidación y de la misma forma pueden introducir parásitos o enfermedades afectando a las especies de abejas nativas (Goulson, 2001). Adicionalmente, las especies nativas de plantas se pueden ver afectadas, pues las abejas foráneas no son necesariamente polinizadores eficientes (Goulson, 2003; Kenta *et al.*, 2007; Morales, 2007; Madjidian *et.al.*, 2008; Goulson *et al.*, 2008). Debido a este riesgo muchos países como Japón, Estados Unidos, Brasil, Méjico, Chile y Colombia iniciaron estudios de especies de abejas nativas para la polinización de diferentes cultivos de interés comercial (Asada y Onno, 1996; Asada y Onno, 1997; Estay *et al.*, 2001; Whittington y Winston, 2004; Palma *et al.*, 2008; de Oliveira *et al.*, 2005).

En nuestro país se han adelantado estudios en aspectos biológicos y ecológicos de varias especies del género *Bombus*. Entre las especies estudiadas, *Bombus atratus* ha mostrado la capacidad de ser implementada como agente polinizador en cultivos de importancia comercial sembrados bajo invernadero (Cruz *et al.*, 2007). Además de las características que comparten con las demás especies del género que hacen que sean consideradas agentes polinizadores eficientes, posee un amplio rango de distribución atitudinal, entre 1500 y 3200 msnm (Ospina *et al.*, 1987) lo que permite su adaptación prácticamente en cualquier piso térmico y a diferencia de las especies de zonas templadas, las colonias de *B atratus* permanecen activas durante todo el año teniendo varios ciclos de producción de sexuales (reinas y machos) (Cameron y Jost, 1998; González *et al.*, 2004), aspecto importante para mantener una producción constante de colonias.

Estudios realizados por el grupo de investigación Biodiversidad y Ecología y Abejas Silvestres han demostrado la eficiencia de la polinización de *Bombus atratus* en los cultivos del tomate (*Solanum lycopersicum*), lulo (*Solanum quitoense*), mora (*Rubus glaucus*) y uchuva (*Physalis peruviana*) (Almanza *et al.*, 2006,). Para el cultivo de tomate se demostró que la polinización mediada por *B. atratus* incrementó en aproximadamente 30% la calidad aumentando el tamaño, número de semillas y aumento del peso de los frutos del tomate comparados con los frutos producidos por la autopolinización, incrementó del 40% en el peso fresco, el 14,3% en el diámetro ecuatorial y del 42% de la proporción de lóculos bien desarrollados (Aldana *et al.*, 2007).

## **2.2 El pimentón (*Capsicum annuum*)**

### **2.2.1 Generalidades del cultivo de pimentón (*Capsicum annuum*)**

Según la FAO, para 2011 en todo el mundo se sembraron 1'837.703 hectáreas con pimentones tanto dulces como picantes, con una producción aproximada de 29'601.175 Ton, siendo China, México, Turquía e Indonesia los países productores más importantes (FAOSTAT, 2013).

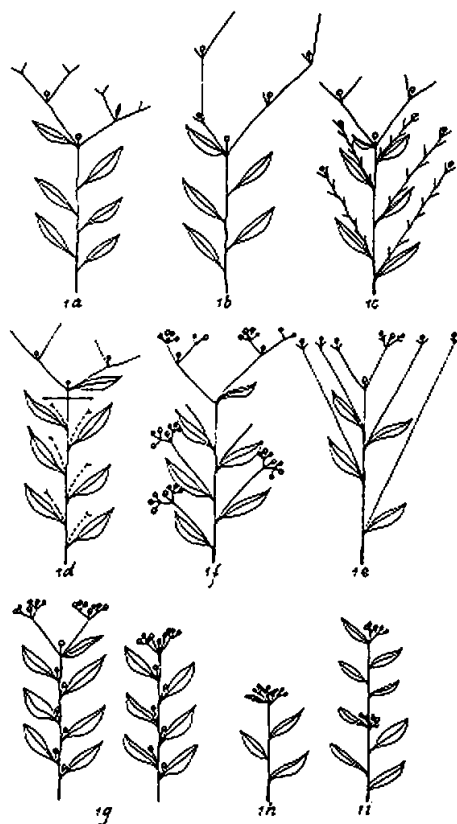
En Colombia, el área sembrada del cultivo de pimentón representa el 0,14% de la participación total del área de cultivos transitorios (1138 Ha) (Agronet, 2013), sin embargo, el Plan Hortícola Nacional (PHN, 2006) identifica y prioriza al cultivo de pimentón con fines de exportación (Carreño *et al.*, 2007; PHN, 2006). Para lograr este objetivo aún es necesario desarrollar y adaptar tecnologías que permitan que los productores sean competitivos en el mercado internacional (Carreño *et al.*, 2007; PHN, 2006).

### **2.2.2 Morfología y Desarrollo Floral**

El pimentón (*Capsicum annuum*), familia Solanaceae, es originario de América del Sur de la zona de Bolivia y Perú y es una de las especies más cultivadas a nivel mundial (Gómez y Gil, 1990). A partir de esta especie se han desarrollado diferentes variedades tanto dulces (pimentón) como picantes (ají) (Palomino *et al.*, 2005). Es una hortaliza con un alto contenido de vitamina A, B1, B2 y contiene más vitamina C que el tomate y la naranja (Nuez *et al.*, 2003; Palomino *et al.*, 2005).

Es una planta herbácea de entre 0,5 y 1 m de altura dependiendo de la variedad. Hay una inflorescencia individual por cada nudo. El fruto es del tipo baya hueca, con la superficie lisa y brillante, de color y forma variable dependiendo de la variedad. El rango de temperatura de crecimiento óptimo está entre 16°C y 25°C, siendo la temperatura óptima 22°C (Nuez *et al.*, 2003).

El pimentón es una planta de porte erguido. Después del nacimiento en la zona apical, el tallo principal se divide en dos o más ramas que nacen en la parte apical y semejante al tallo principal (FAO, 2002) (Figura 1).



**Figura 1:** Diferentes Formas de Crecimiento del pimentón (FAO, 2002)

Las flores son hermafroditas y están unidas al tallo por un pedúnculo de 10 a 20 mm de longitud. La estructura anatómica de éste es semejante a la de un tallo vegetativo

Cada flor está conformada por el cáliz, constituido por 5-8 sépalos, la corola, formada por 5-pétalos, el androceo por 5-8 estambres y el gineceo por 2- 4 carpelos. El número de sépalos y pétalos pueden variar entre las flores de una misma planta. El número de sépalos coinciden en cada caso con el número de costillas pedúnculo floral. El cáliz, tiene forma de tubo, tiene una superficie rugosa y color verde amarillento. La presencia y ausencia de una constricción anular en la unión con el pedicelo. En general la corola tiene un diámetro de 10 a 20 mm, los pétalos están soldados por la base y el color puede variar (Nuez *et al.*, 1996).

La longitud de los estambres puede variar entre 1,8 y 3,5 mm, en el extremo lleva una antera de 1.2 mm de ancho y 2,4 mm de largo. Cada antera está formada por dos lóbulos o tecas. Cada una de las cuales tienen dos sacos polínicos (Figura 2) (Nuez *et al*, 2003).

Cada planta produce varios botones de flores que pueden al 100% de su maduración cuando son las primeras y van sobre el tallo principal. Este valor disminuye a 80% en las flores que aparecen más tarde, sobre el mismo tallo y puede ser drásticamente más bajo en los tallos laterales, 20-30% e incluso llegar apenas a 10% para las flores de las ramas laterales (FAO, 2002)



**Figura 2:** Partes de la flor A: Constricción por la bifurcación, B: Cáliz y corola, C: Corola, D: Gineceo y Androceo y E: Anteras y filamentos

### 2.2.3 Factores que afectan la Floración

La etapa de floración es un proceso sobre el cual influyen numerosos factores, como las condiciones ambientales, los nutrientes disponibles para el cultivo, la relación fuente vertedero y las condiciones sanitarias. Para el cultivo de pimentón, uno de los factores ambientales más influyentes en la diferenciación floral son las temperaturas nocturnas. Según Guzmán (1988), cuando las temperaturas nocturnas están por debajo de los 15°C y las diurnas por encima de los 30°C, la producción disminuye debido a la poca floración y fecundación dado que bajo estas condiciones ambientales no germina el grano de polen

Adicionalmente, El pimentón es muy sensible a los niveles de humedad relativa altos, siendo el nivel de humedad ideal del 70-75%. Niveles superiores favorecen los ataques de *Botrytis* y el aire más seco es perjudicial para la formación del fruto y provoca el aborto floral (FAO, 2002)

### 2.3 Polinización del cultivo de pimentón

En general las flores de pimentón son autocompatibles, sin embargo la polinización cruzada mediada por abejas incrementa la calidad de los frutos y por lo tanto la producción de los cultivos (Delaplane y Mayer, 2000). En términos generales existe una fuerte correlación entre el número de semillas producidas en un fruto con el peso de este (Delaplane y Mayer, 2000). Para producir una semilla es necesario que un grano de polen se deposite en el estigma y fecunde un ovulo; En el caso del pimentón, una polinización deficiente produce frutos deformes y pequeños debido a la baja producción de semillas (Delaplane y Mayer, 2000). La flor del pimentón produce néctar para atraer agentes polinizadores como las abejas u otros insectos. Esta estrategia facilita y asegura la polinización de la flor. En los cultivos comerciales la vibración manual de las flores ha sido una estrategia utilizada ampliamente para facilitar la polinización, sin embargo es muy costosa debido a la alta mano de obra que implica. En muchos países se han evaluado e implementado colonias de *Bombus* spp u otras especies de abejas tal como la abeja de la miel *Apis mellifera* o las abejas sin aguijón (por ejemplo *Melipona subnitida*) mostrando una disminución en la mano de obra y aumento en la calidad de los frutos (Meisels y Chiasson, 1997; Delaplane y Mayer, 2000; Olivera *et al.*, 2005).

*Bombus terrestris* es un polinizador eficiente del pimentón, comparado con otras especies de abejas. La Tabla 1 muestra el efecto de la polinización mediada por *Bombus terrestris* en el número de semillas producidas en dos variedades de pimentón (Roldan-Serrano y Guerra-Sanz, 2006).

**Tabla 1.** Efecto de la polinización mediada por *B terrestris* en el número de semillas producidas en el pimentón.

Variedad	Número de semillas	
	<i>Bombus terrestris</i>	Autopolinizadas
Bardenas	49,81±0,9	27,5±0,9
Vergasa	40,79±0,9	25,77±0,9

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 General**

Establecer el comportamiento y la eficiencia de polinización del abejorro *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) en el cultivo de pimentón (*Capsicum annum*) sembrado bajo invernadero.

#### **3.2 Específicos**

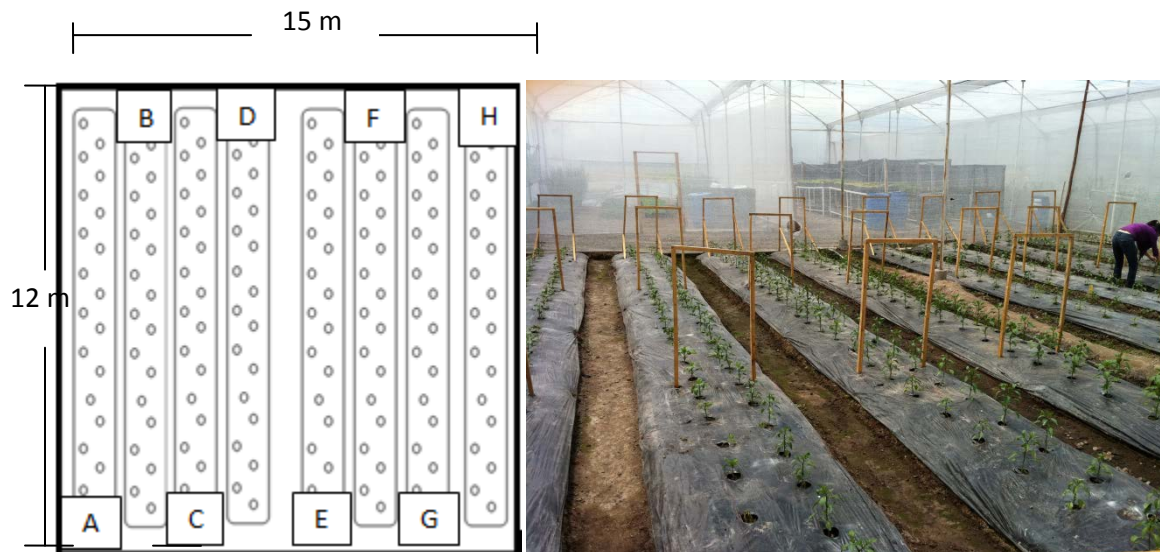
- Describir el desarrollo floral del pimentón (*Capsicum annum* var. Quetzal) sembrado bajo invernadero.
- Determinar el comportamiento de *Bombus atratus* sobre la flor del pimentón (*Capsicum annum* var. Robledo) sembrado bajo invernadero.
- Determinar del efecto de la polinización sobre el cultivo del pimentón (*Capsicum annum* var. Robledo).

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Desarrollo floral del pimentón

#### 4.1.1 Material Vegetal

Para describir el desarrollo floral del pimentón, se sembraron 200 plantas de pimentón var Quetzal (Rioplant LTDA) en una sección de 180 m<sup>2</sup> del invernadero de horticultura ubicado en el Campus Nueva Granada (2580 m.s.n.m.). Las plantas fueron sembradas al tres bolillo en 8 camas, cada una de ellas de 10m de largo por 1m de ancho (Figura 3). La distancia aproximada entre plantas fue de 50 cm. El cultivo fue mantenido según las indicaciones tanto del grupo de horticultura de la facultad de ciencias básicas la UMNG como de los asesores técnicos de la empresa proveedora del material vegetal.



**Figura 3:** Diagrama del área y distribución de siembra del cultivo de pimentón var Quetzal, mantenido bajo invernadero en Cajicá, Cundinamarca.

#### **4.1.2 Caracterización de los estados florales flores del pimentón.**

Con el propósito de caracterizar los estadios de desarrollo floral del pimentón, se tomaron 300 flores en diferentes estados de desarrollo, a las que se les clasificó según sus características morfológicas. Se tuvo en cuenta la disposición y coloración de los pétalos, al igual que la disposición del androceo y gineceo. Una vez caracterizados los estadios se midieron las siguientes estructuras en 30 flores por cada estadio:

Androceo - Largo del filamento (mm) y Largo de la antera (mm)

Gineceo - Largo del estilo (mm) y ancho del ovario (mm)

Las flores fueron disectadas con cortes longitudinales y sagitales, puestas en placas de Petri y observadas al estereoscopio utilizando el programa de análisis de imagen Scion Imagen (Versión 4.0.3.2). Los datos fueron analizados con los modelos estadísticos ANOVA y Tukey utilizando el programa R (Versión 2.14.1 para Windows)

#### **4.1.3 Receptividad del estigma**

Adicional a la caracterización morfométrica de los estadios florares, se determinó la receptividad del estigma en 300 flores en los diferentes estadios de desarrollo identificados anteriormente a partir de la prueba de las enzimas de peroxidasas mediante la aplicación de 10  $\mu$ l de solución de bencidina con una micropipeta (Micropipette 1-100  $\mu$ l) (Kearns y Nayue, 1993) en dos momentos del día: mañana (9:00 y 10:00 am.) y tarde (2:30 y 3:30 pm) Para el análisis de los datos se utilizó un modelo lineal generalizado de dispersión paramétrica binomial con el programa estadístico R (Versión 2.14.1 para Windows).

#### **4.1.4 Volumen de néctar**

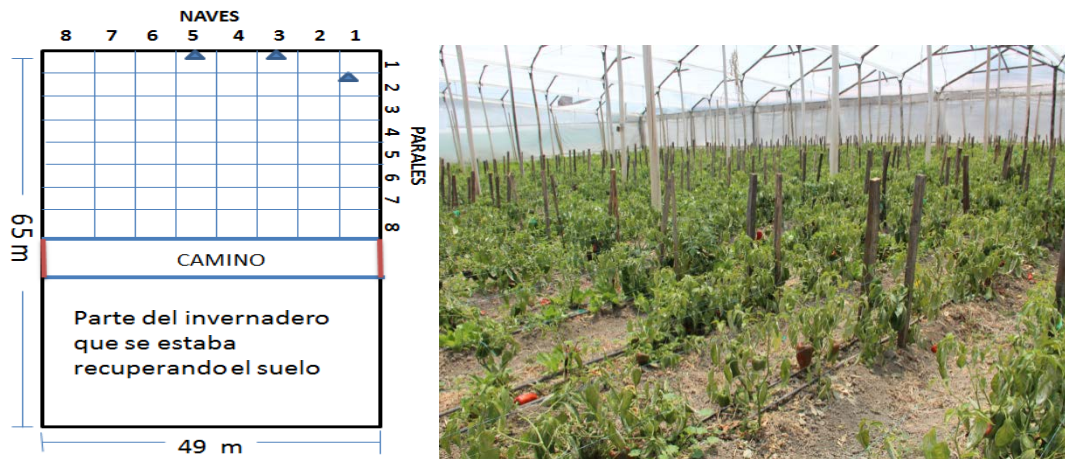
Se colectó el volumen total del néctar con capilares de 0,5 ml (Marienfeld) vía vacío a 50 flores de los estadios caracterizados (Lobatón, 2011). Los datos obtenidos fueron analizados con los modelos estadísticos ANOVA y Tukey con el programa estadístico R (Versión 2.14.1 para Windows).



## 4.2 Comportamiento de obreras de *B. atratus* en el cultivo de pimentón.

### 4.2.1 Material Vegetal

Para establecer el comportamiento forrajero de las obreras de *B. atratus*, se realizaron observaciones en un área sembrada con 5000 plantas de pimentón de la variedad Robledo, bajo invernadero. Esta área, de 1500 m<sup>2</sup>, estaba conformada por 17 camas de 1 m de ancho por 22 m de largo, cada una sembrada con dos hileras de plantas de pimentón y una distancia entre plantas de 35 cm. Este cultivo se encontraba en el municipio de Sáchica, Boyacá a 1990 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 16,2 C° (Figura 5).



**Figura 4:** Diagrama del área y distribución de siembra del cultivo de pimentón var Robledo, mantenido bajo invernadero

### 4.2.2 Cría de colonias de *B. atratus*

Se realizaron salidas de campo para la recolección de reinas de *B. atratus* utilizando redes entomológicas, en algunos municipios de la Sabana de Bogotá (Cajicá, Chía, Mondoñedo y Ubate). Luego de ser capturadas, las reinas fueron ubicadas en frascos de vidrio e inmediatamente después se transportaron en neveras de icopor a un cuarto climatizado (cámara de cría).

Una vez en la cámara de cría (temperatura 25°C-28°C, humedad relativa 70-75%), las reinas se ubicaron en una caja de iniciación elaborada en madera de 10x7x5 cm, con una tapa frontal en vidrio, para poder observar la actividad en el interior de la colonia y un piso de malla plástica para mantener la caja limpia. Las colonias se alimentaron con solución azucarada (agua y azúcar en proporción 1:1 V/P), cada ocho días y con polen fresco

proveniente de colonias de *Apis mellifera* (Almanza *et al.*, 2006). Cuando las colonias alcanzaban diez obreras en las cajas de iniciación, estas eran trasladadas a una caja de mayor tamaño (caja de crecimiento), también de madera 30x20x20 cm.

#### **4.2.3 Localización de las colonias de *B. atratus***

Para establecer el comportamiento de forrajeo de las obreras de *B. atratus* así como el efecto en la producción del pimentón, se criaron y ubicaron tres colonias en el cultivo, siguiendo los protocolos desarrollados por el grupo BEAS.

Cuando las colonias llegaron a 80 obreras, estas fueron reubicadas en cajas de campo las cuales corresponden a cajas de icopor de 20 L modificadas para facilitar la adaptación de las colonias a las condiciones de cultivo (Figura 5) y transportadas a este el 9 de mayo del 2012. Una vez en el cultivo, las colonias fueron puestas sobre pedestales de madera a una altura aproximada de 50 cm y dejadas en aclimatación por un periodo de 12 horas. Una vez cumplido este periodo cuando las obreras podían salir libremente a forrajear, se iniciaron las observaciones y toma de datos.



**Figura 5:** Ubicación de las colonias de *B. atratus* en el cultivo de pimentón Var. Robledo en Sáchica, Boyacá.

#### **4.3 Toma de datos del comportamiento de forrajeo de *B. atratus***

Durante la fase en que el cultivo estaba en floración, se realizaron 336 observaciones al azar, sobre flores que estaban recibiendo visitas de obreras. Los muestreos se realizaron entre los días 9 de mayo y 15 de junio. Para cada observación se tuvieron en cuenta las siguientes variables durante el día (Meisels y Chiasson, 1997):

Tiempo de visita – tiempo que permanecía la obrera en la flor, desde la llegada hasta su partida completamente al azar (registrado mediante cronómetro).

Estadio floral visitado – según los estadios florares que se describieron en la primera etapa.

Descripción del comportamiento de la abeja sobre la flor – por ejemplo limpieza del cuerpo, caminar o posarse sobre la flor.

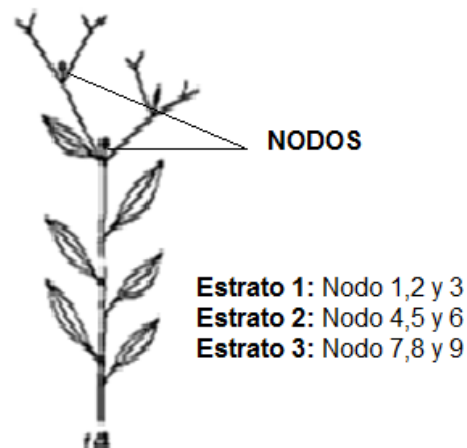
#### 4.4 Efecto de la polinización por *Bombus atratus* en pimentón

Para determinar el efecto de la polinización mediada por las obreras de *B. atratus*, se realizó un diseño factorial de 3x2, teniendo tres estratos (Figura 6) y dos tratamientos (frutos de flores auto polinizadas y frutos de flores polinizadas por *B. atratus*).

##### 4.4.1 Fase de Campo

###### Frutos producto de autopolinización

Para obtener frutos producto de la autopolinización, se marcaron y embolsaron 25 botones florales en tres estratos diferentes (Figura 6) teniendo en cuenta el patrón de floración de la planta. Cada botón fue embolsado con una malla de ojo 3x3 mm para no permitir la visita de obreras de *B. atratus*. Después de 10 días, luego de la senescencia de la flor, la malla era retirada para permitir el desarrollo adecuado de los frutos. Los frutos fueron cosechados 50 días después de la aparición del botón floral.



**Figura 6:** Esquema de estratificación de recolección de Frutos visitados como polinizados

### **Frutos producto de la visita de obreras de *Bombus atratus***

A partir de la observación directa, se marcaron y embolsaron 25 flores visitadas por las obreras de *B. atratus* en cada estrato. Luego de la senescencia de la flor, la bolsa de malla era retirada y los frutos cosechados (aproximadamente 50 días después de la senescencia de la flor).

#### **4.4.2 Fase de Laboratorio**

Después de la cosecha, los frutos se llevaron al laboratorio para la determinación del efecto de la polinización teniendo en cuenta las siguientes variables (Roldan-Serrano):

Peso seco – obtenido en balanza analítica después de un periodo de secado por 8 días a 30°C.

Número de semillas – conteo del total de semillas en cada uno de los frutos.

Tamaño del fruto – medición (cm) de la longitud del fruto de la base hasta el ápice.


Los datos fueron analizados con los modelos estadísticos ANOVA y Tukey con el programa estadístico R (Versión 2.14.1)



## 5. RESULTADOS





### 5.1 Desarrollo floral del pimentón *Capsicum annum*

A partir de la caracterización morfométrica, la receptividad del estigma y la cantidad de néctar de las flores se identificaron 5 estadios florales que se describirán en la tabla a continuación (Tabla 2).

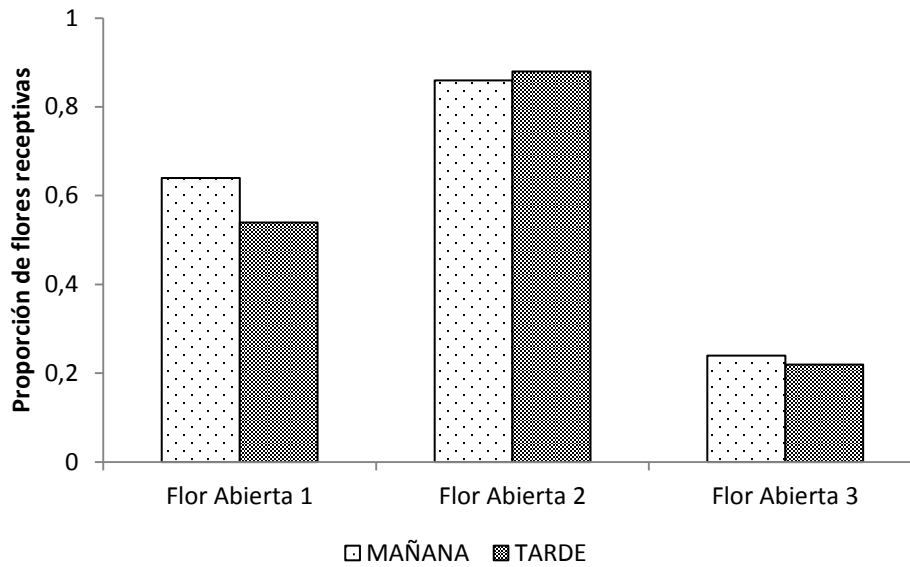
**Tabla 2.** Caracterización de los estadios florales del pimentón.

<b>Estadio</b>	<b>Descripción</b>	Fotografías: (Pacateque, 2012)
<b>Botón Floral</b>	Cáliz y Corola inicialmente de color verde. Posteriormente la corola se torna a una tonalidad blanca. Durante este estadio, los pétalos permanecen fusionados. Longitud desde la base hasta la punta de 2 mm. El tiempo de duración de este estadio es de 4 días.	

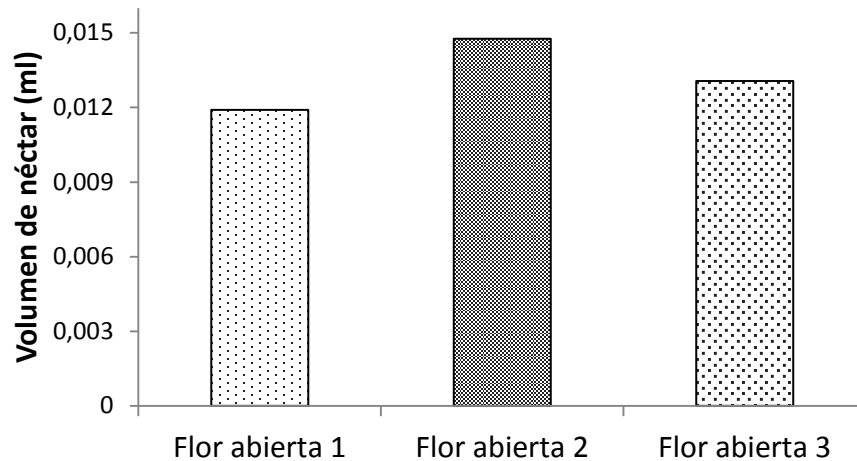
<p><b>Flor abierta 1</b></p>	<p>Descripción g3eneral: Pétalos abiertos y parcialmente paralelos al pedúnculo. Seis anteras en contacto entre si y dispuestas por encima del estigma. Inicio de la antesis. Presencia de néctar en la base de la corola (<math>1,19 \pm 0,39 \mu\text{l}</math>). El estigma es receptivo durante este estadio. Duración del estadio 2 días.</p> <p>Morfometria</p> <p>Androceo: largo del filamento <math>3,831 \pm 0,74</math> mm. Largo de la antera <math>4,52 \pm 0,75</math> mm.</p> <p>Gineceo: largo del estilo <math>4,899 \pm 0,77</math> mm. Ancho del ovario <math>6,79 \pm 0,52</math></p>	
<p><b>Flor abierta 2</b></p>	<p>Descripción general: Pétalos abiertos, dispuestos perpendicularmente con respecto al pedúnculo. Anteras dispuestas de forma separadas entre sí y no están en contacto con el estigma. Antesis Completa. Presencia de néctar en la base de la corola (<math>1,48 \pm 0,41 \mu\text{l}</math>). El estigma es receptivo durante este estadio. Duración del estadio un día.</p> <p>Morfometria</p> <p>Androceo: Largo del filamento <math>7,47 \pm 0,93</math> mm. Anteras con longitud de <math>4,2 \pm 0,48</math> mm.</p> <p>Gineceo: Longitud del estilo <math>7,1 \pm 0,1</math> mm.</p>	

	Ancho del ovario $8,56 \pm 1,2$ mm.	
<b>Flor abierta 3</b>	<p>Descripción general: Inicio de la senescencia de los tejidos de la flor. La base de la corola se torna oscura. Las anteras no presentan polen. Ovario más ensanchado que en los estadios anteriores. Presencia de néctar en la base de la corola (<math>1,3 \pm 0,39</math> <math>\mu</math>l). Estigma receptivo durante este estadio.</p> <p>Morfometria</p> <p>Androceo: Largo del filamento <math>9,9 \pm 1,3</math> mm. Largo de las anteras <math>4,82 \pm 0,61</math> mm.</p> <p>Gineceo: Longitud del estilo <math>9,66 \pm 0,92</math> mm. Ancho del ovario <math>10,1 \pm 1,2</math></p>	 
<b>Flor senescente</b>	<p>Los tejidos de la flor (Corola, Gineceo y Androceo), presentan una coloración oscura. Cáliz persistente El ovario presenta un tamaño considerablemente mayor con respecto a los estadios anteriores. No hay presencia de néctar. Duración del estadio 1 día</p>	 

A partir de los datos obtenidos, tanto el tamaño de las estructuras medidas (gineceo y androceo), la producción de néctar y la receptividad del estigma presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los estadios Flor Abierta 1, 2 y 3. El estadio Flor abierta 2 es el que presenta una mayor producción de néctar y un estigma altamente receptivo. La hora del día no tiene ningún efecto en la receptividad del estigma (Figura 7 y 8).



**Figura 7:** Proporción de flores con estigmas receptivos en flores de pimentón variedad Quetzal en los tres estadios de flor abierta en dos momentos diferentes.

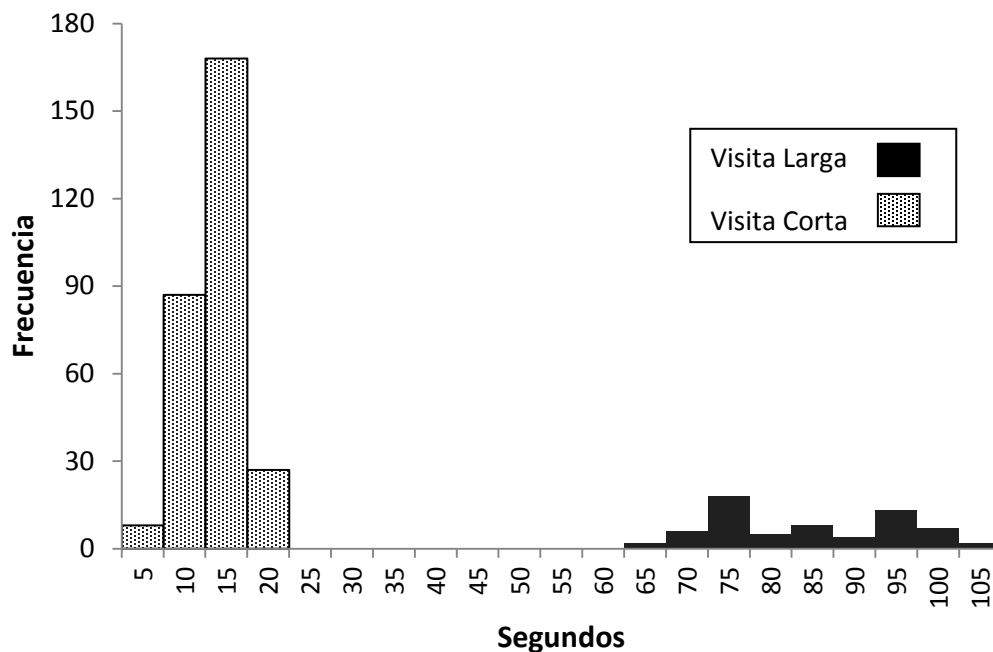


**Figura 8:** Volumen promedio de néctar en cada estadio de Flor Abierta de pimentón.



## 5.2 Comportamiento de la visita floral de las obreras de *B. atratus*

A partir de las observaciones se identificaron dos patrones de visita floral, corta y larga, teniendo en cuenta la duración y el comportamiento que presentaban las obreras de *B. atratus* en la flor. (Figura 9). La visita corta tuvo una duración promedio de  $12,34 \pm 5,77$  segundos, durante los cuales las obreras realizaban un giro de  $360^\circ$ , deteniéndose en cada uno de los nectarios extender la glosa y extraer el néctar. Paralelamente, en el momento del giro su metasoma estaba en contacto con el estigma lo que permitía la polinización cruzada por el polen acumulado en la parte ventral de su cuerpo (figura 10). La visita larga tuvo una duración promedio de  $82,8 \pm 11,14$  segundos y se caracterizó porque las obreras de *B. atratus*, al llegar a las flores, realizaban tareas de acicalamiento, aglomerando el polen presente en el cuerpo en las corbículas para formar la carga de polen en sus corbículas.

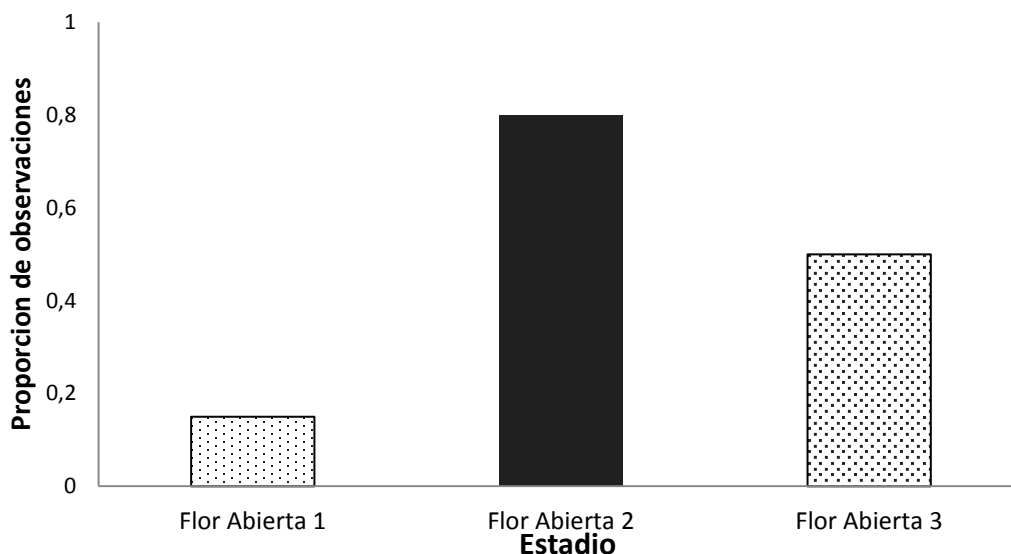


**Figura 9:** Histograma del tiempo de visitas Larga y Corta de obreras de *B. atratus* en flores de pimentón.



**Figura 10:** Comportamiento de Visita corta de obreras de *B. atratus* en la flor de pimentón (Fotos Riaño D., 2011)

A partir de las observaciones se determinó que del total de visitas florales registradas, el estadio Flor Abierta 2 fue en el que se observó en mayor proporción a las obreras (Figura 11).



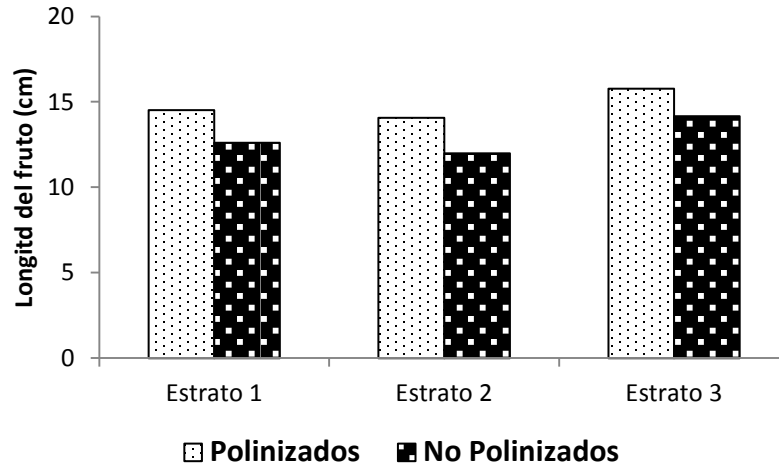
**Figura 11.** Proporción de visita de *B. atratus* observados en los diferentes estadios de flor abierta descritos en la flor de pimentón.

### 5.3 Efecto de la polinización de *B. atratus* en el pimentón

Se observó un efecto significativo de la polinización mediada por *B. atratus* en todas las variables evaluadas en el presente trabajo (número de semillas, largo del fruto y peso seco).

#### 5.3.1 Largo del Fruto

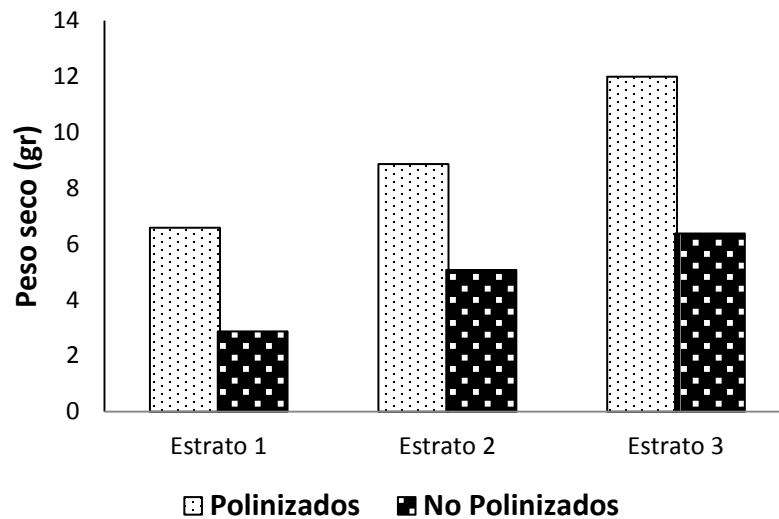
El largo de los frutos presentó diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0,01$ ); los frutos producto de flores polinizadas por abejorros presentan una mayor longitud ( $14,7 \pm 0,26$  cm) que los frutos producto de la autopolinización ( $12,9 \pm 0,26$  cm). De otra parte se encontró que los frutos del tercer estrato presentaban una mayor longitud independientemente del tipo de polinización (autopolinización o polinización cruzada) ( $p < 0,01$ ) (Figura 12).



**Figura 12:** Longitud promedio de frutos polinizados y no polinizados de pimentón en tres estratos diferentes.

### 5.3.2 Peso Seco

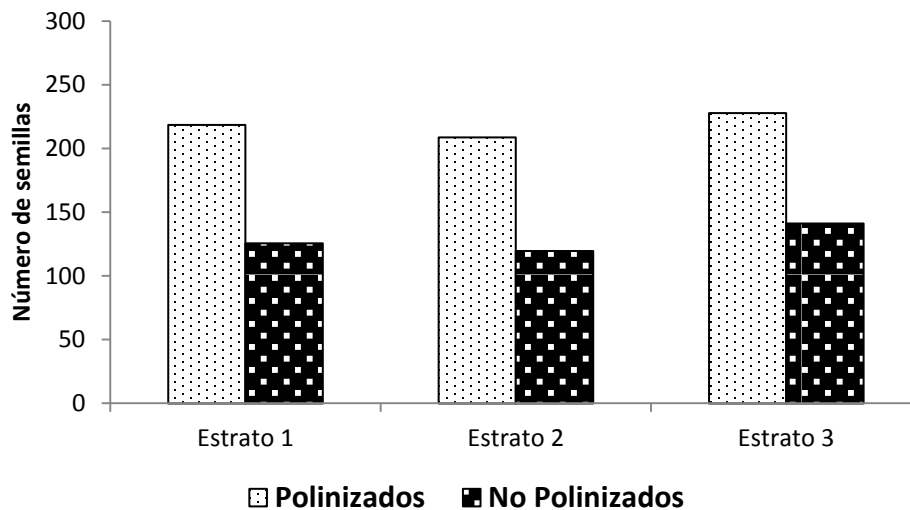
El peso seco de los frutos presentó diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0,01$ ), teniendo que los frutos producto de flores polinizadas presentaron un mayor peso seco ( $9,2 \pm 0,31$  g) que los frutos producto de la autopolinización ( $4,6 \pm 0,24$  g). Del mismo modo se encontraron diferencias ( $p < 0,01$ ) en el peso seco de los frutos dependiendo del estrato, aumentando a medida que aumenta el estrato (Figura 13).



**Figura 13:** Peso seco de frutos no polinizados y polinizados de pimentón var Robledo.

### 5.3.3 Número de semillas

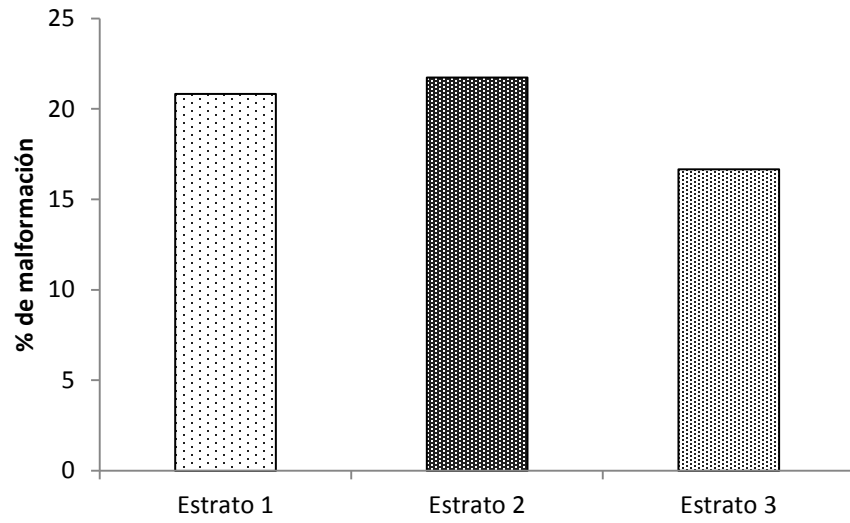
El número de semillas de los frutos presentó diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0,01$ ), teniendo que los frutos producto de flores polinizadas presentaron un mayor número de semillas ( $218 \pm 7,2$ ) que los frutos producto de la autopolinización ( $127 \pm 5,2$ ). No se encontró efecto entre la variable número de semillas y el estrato ( $p > 0,05$ ) (Figura 14).



**Figura 14:** Cantidad de semillas producidas por frutos de pimentón no polinizados y polinizados por *B. atratus*.

### 5.3.4 Malformaciones

No se presentaron malformaciones en los frutos producto de flores polinizadas por *B. atratus* en contraste a lo observado en los frutos producto de la autopolinización (Figura 15).



**Figura 15.** Porcentaje de malformación de frutos producto de flores autopolinizadas de pimentón en los tres estratos evaluados.

## 6. DISCUSIÓN

A pesar que el pimentón es una hortaliza de importancia a nivel mundial, son pocos los trabajos experimentales sobre los requerimientos de polinización de este cultivo y ninguno que describa el comportamiento de los polinizadores. El presente trabajo describió algunos aspectos en la interacción planta-polinizador que determinan el efecto positivo de *B. atratus* en la productividad del pimentón.

De acuerdo a Elzinga *et al.*, (2007), el éxito reproductivo de las plantas en términos de la producción de semillas depende de la selectividad y especificidad en la visita de los polinizadores determinados principalmente por la fenología y morfología de la flor. Para el caso del pimentón, la visita floral por parte de las obreras de *B. atratus* pudo estar relacionada con la alta producción de néctar y disponibilidad del polen que se observó en el estadio Flor Abierta 2, momento en el cual el estigma es altamente receptivo. Este aspecto favorece a la planta por la polinización cruzada y por consiguiente la producción de semillas y a su vez a las obreras por la colecta de una mayor cantidad de néctar y polen (Velthuis y Van doorn, 2006). El comportamiento de visita (larga y corta) observado en las obreras de *B. atratus* es similar al reportado en otras especies de abejorros (Nates-Parra, 2006, Goulson, 2003, Prys-Jones y Corbet, 1987). La visita corta se relaciona con el comportamiento de colecta de los recursos ofrecidos por las flores. En el caso del pimentón, las anteras no necesitan de la vibración que caracteriza a los abejorros para colectar el polen (buzz pollination), ya que este se encuentra totalmente expuesto lo que permite que el polen se adhiera al cuerpo de las obreras (Delaplane y Mayer, 2000). A su vez, la disposición de los nectarios en la flor obliga a las obreras a realizar un movimiento circular sobre ésta favoreciendo el contacto con el estigma y la transferencia del polen a este. Parte del resultado de la interacción entre *B. atratus* y *C. annum* es el efecto en la productividad del pimentón.

Parte de la explicación de los modelos de interacción entre las flores y las abejas es la coevolución que por más de 58 millones de años ha influido en la fenología de muchas plantas y el desarrollo de adaptaciones por parte de las abejas. El recurso, la caracterización de los tiempos de desarrollo de la flor, los factores abióticos, se vuelven determinantes a la hora de la visita y a su vez, un selectivo de caracteres que les permite mantener esa relación mutualista, dejando como resultado frutos de mayor calidad, alta

producción de semillas y una mejora en los ecosistemas de la vida diaria (Daily, 1997; Allen-Wardel, *et al.*, 1998; Arizmendi, 2009; Heinrich, 2004)

En Brasil, se determinó que *Melipona subnitida* es un polinizador eficiente para el cultivo del pimentón bajo invernadero, al igual que este estudio mostro diferencias significativas en la producción de semillas con un aumento del 46.2 % entre polinizadas y no polinizadas (Oliverira, *et al.*, 2005 ), contrastando la vista de *B. atratus*, la cual mostro un aumento en la productiva de semillas del 59.4%, lo que indica la producción de frutos de calidad (Almanza, 2008, Aldana, *et al*, 2007). Adicionalmente, dentro de la variable de malformaciones los dos trabajos muestran que las flores polinizadas tuvo un bajo porcentaje respecto a las flores autopolinizadas, como también se evidencio en el trabajo de Rasmussen (1985) con *Megachile rotundata*.

En las variables de largo del fruto y peso seco, se mostró diferencias significativas entre polinizados y no polinizados, Bell *et al*, (2006), muestra el mismo comportamiento con la polinización de *Amegilla holmesien* el cultivo del tomate bajo invernadero, donde el peso aumenta un 11.4% frente a los otros dos tratamientos; polinización por vibrador y autopolinización. En estudios realizados en arándanos con *Bombus impatiens* muestra la relación entre el peso y la producción de semillas, directamente proporcional a medida que aumenta la producción de semillas, aumente el peso (Desjardins y Oliveira, 2006), reflejando el mismo patrón con el cultivo de pimentón. El aumento en la variables como semillas, peso seco y largo están relacionadas con la calidad del fruto que a su vez está relacionada con la selección de los polinizadores y los patrones de visitas (Elzinga *et al*, 2007). Adicionalmente, se observó que el aumento del largo del fruto y el peso seco crece a medida que aumenta los estratos, donde el estrato 1 produce pimentones menos largos y con menos peso mientras que el estrato 3 desarrollaba pimentones más largos y con mayor peso.

Dentro del desarrollo fisiológico de la planta del pimentón, las primeras fases de desarrollo de la planta son direccionadas a fortalecer el sistema radicular (Días, *et al.* 1999 y Vidal, 2000), la cual como lo muestra Escalona y Pire (2008), a medida que crece la planta aumenta el peso seco de los frutos que va directamente relacionado con la fertilización cultivo, sin embargo después un tiempo de desarrollo y edad de la plata esta va disminuyendo la producción de frutos y la calidad de estos (FAO, 2002 y Vilora, 1991) Finalmente, el papel de las interacciones es determinante en la selección de caracteres que favorecen la productividad de la planta, los patrones morfológicos y los esquemas de



vista generan una relación entre la flor del pimentón y la polinización de *Bombus atratus* mutualista, permitiendo un cultivo de producción de frutos de calidad, con mayor densidad y logrando una polinización cruzada éxito. Por la cual *Bombus atratus* es un polinizador eficiente para el cultivo de pimentón.

## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo, *B. atratus* tiene el potencial de ser un polinizador eficiente para el cultivo del pimentón. El comportamiento de *B. atratus* está sincronizado con el proceso de floración que favorece la polinización cruzada del pimentón y por consiguiente el aumento de la calidad de los frutos.

El pimentón ofrece abundante néctar y polen, lo que permite que las colonias tengan un adecuado crecimiento y desarrollo facilitando la adaptación de estas en el cultivo.

Es necesario desarrollar trabajos en condiciones de producción comercial de pimentón en los que se integren variables como utilización de químicos, cantidad de colonias necesarias y desarrollo de las colonias con el objetivo de desarrollar estrategias de polinización dirigida para este cultivo.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Abrahamovich A.H., Díaz N.B. and Morrone J.J. 2004. Distributional patterns of the Neotropical and Andean species of the genus *Bombus* (Hymenoptera: Apidae). *Acta zoológica mexicana* 20: 99-117.
2. Aldana, J.; Cure, J.; Almanza, T.; Vecil, D y Rodríguez, D. 2007. Efecto de *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) sobre la productividad de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo invernadero. *Agronomía Colombiana*. 25: 62-72
3. Allen-Wardell, G.; Bernhardt, P y Bitner, R. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conservation Biology*. (12): 8-17p.
4. Almanza M.T., Cure J.R. and Wittmann D. 2006. Neotropical bumblebee rearing to pollinate crops: a way to sustainable agriculture in Colombia. Association of Institutes for Bee Research. Report of the 53rd seminar in Hohenheim 28-30p.
5. Almanza, M.; CRUZ, P. y CURE, J. 2008. Protocolo de cría de *Bombus atratus* en cautiverio. Facultad de Ciencias. Universidad Militar Nueva Granada. Grupo de Investigación Biodiversidad y ecología de abejas silvestres.
6. Asada, S y Ono, M. 1996. Crop pollination by Japanese bumblebee, *Bombus* spp. (Hymenoptera: Apidae): Tomato foraging behavior and pollination efficiency. *Appl. Entomol. Zool.* (31):581-586p.
7. Asada, S y Ono, M. 1997. Tomato pollination with Japanese native bumblebees (*Bombus* spp). *Act. Hort.* (437): 289-292p.
8. Bell, M, Spooner, R y Haigh, A. 2006. Pollination of Greenhouse Tomatoes by the Australian Blue banded Bee *Amegilla* (*Zonamegilla*) *holmesi* (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 99(2): 437-442p.
9. Cabrera, F y Salazar, E. 2004. Producción de hortalizas de clima cálido/. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá Colombia.

10. Cameron, S y Jost, M. 1998. Mediators of dominance and reproductive success among queens in the cyclically polygynous Neotropical bumble bee *Bombus atratus* Franklin. *Insectes Sociaux* . (45): 135-149 p.
11. Carreño, A.; Vargas, A.; Bernal, S y Restrepo, S. 2007. Problemas Fitopatológicos en especies de familias Solanaceae causados por los generos *Phytophthora*, *Alternaria* y *Ralstonia* en Colombia. *Agronomía Colombiana*. 25: 320-329p.
12. Corbet S.A., Williams, I and Osborne J.1991. Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European Community. *Bee World* 72: 47-59
13. Corporación Colombia Internacional (CCI). 2006. Plan Hortícola Nacional, diagnóstico y análisis de los recursos para la fruticultura en Colombia. 500p
14. Cruz O., Almanza M.T. and Cure J.R. 2005. Determinación de las diferencias en las dietas de tres especies de abejorros del género *Bombus* en sus ambientes naturales mediante análisis palinológico. In: *Memorias del XXXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología*. Bogotá Colombia.
15. Cruz, P.; Almanza, M y Cure, J. 2007. Logros y perspectivas de la cría de abejorros del genero *Bombus* en Colombia. *Revista Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Militar Nueva Granada* (2): 49-60p.
16. Daily, G. 1997. *Nature's services. Societal dependence on natural ecosystems*. Island Press: Washington, DC
17. Delaplane, K. y Mayer, D. 2000. *Crop Pollination by Bees. Zoosystematics and Evolution*. New York. (78): 192
18. Desjardins, E y Oliveira, D. 2006. Commercial Bumble Bee *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) as a Pollinator in Lowbush Blueberry (*Ericaceae*: *Ericaceae*) Fields. *J. Econ. Entomol* 99(2): 443-449p.
19. Dias, B.; Raw, A y Imperatriz-Fonseca V. 1999. International Pollinators Initiative: the São Paulo declaration on pollinators. Report on the recommendations of the workshop on the conservation and sustainable use of pollinators in agriculture with emphasis on bees. 79p.

20. Elzinga, J.; Altan, A.; Biere, A.; Girgord, L.; Wies, A y Bernasconi, G. 2007. Time after time: Flowering phenology and biotic interactions. *Ecology and Evolution*. (8): 432-439p.
21. Escalona, A y Pire, R. 2008. Crecimiento y extracción N-P-K por plantas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) abonadas con estiércol de pollo en Quíbor, estado Lara. *Fac. Agron.* (25): 2p.
22. Estay, P.; Wagner, A y Scaff, M. 2001. Evaluación de *Bombus dahlbomii* (Guér.) como agente polinizador de flores de tomate (*Lycopersicon esculentum* (Mill.)), bajo condiciones de invernadero. *Agric. Téc. Chile* (61):113-119 p.
23. FAO. 2002. El cultivo protegido en clima mediterráneo. Roma. Capítulo 6: 202-214 p.
24. Free, J. 1970. Effect of flower shapes and nectar guides on the behaviour of foraging honeybees. *Behaviour*. (37): 269–285 p.
25. Goulson D y Stout J. 2001. Homing ability of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie* 32: 105-111p.
26. Goulson, D. 2003. Bumblebees behavior and ecology. Oxford University Press. New York. 235p
27. Goulson, D.; Lye, G y Darvill, B. 2008. Decline and conservation of bumble bees. *Annual Review of Entomology* (53):191–208p.
28. Heinrich, B. 2004. Bumblebees Economics. Harvard University Press. (12): 180-200p.
29. Kearns, C y Inoume D. 1993. Techniques for pollination biologist. University Press of Colorado. USA.
30. Kenta, T.; Inari, N.; Nagamitsu, T.; Goka, K y Hiura, T. 2007. Commercialized European bumblebee can cause pollination disturbance: an experiment on seven native plant species in Japan. *Biological Conservation* (134):298–309p
31. Kevan, P.; Straver, W.; Offer, M and Laverty, T. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bumblebees in Ontario. *Proc. Entomol. Soc. Ont.* (122):15-19 p.

32. Kremen, C.; Neal, W.; Aizen, M.; Gemmill-Herren, B.; Lebuhn, G.; Minckley, R.; Packer, L.; Potts, S.; Roustoln, I.; Steffan, I.; Vázquez, P.; Winfree, R.; Adams, L.; Crone, E.; Grenleaf, T.; Keitt, T.; Regetz, J y Ricketts, T. 2002. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*. (10): 299-314 p.
33. Lavery, T y Plowright, R. 1985. Flower handling by bumblebees: a comparison of specialists and generalists. *Animal Behaviour*. (36): 733-740p.
34. Liévano, A.; Ospina, R. and Nates, G. 1991. Distribución altitudinal del género *Bombus* en Colombia (Hymenoptera: Apidae). *TRIANEA* (4): 541-550p.
35. Madjidian, J.; Morales, C y Smith, H. 2008. Displacement of a native by an alien bumblebee: lower pollinator efficiency overcome by overwhelmingly higher visitation frequency. *Oecologia*, 156(4): 835-845 p.
36. Meisels, S y Chiasson, H. 1997. Effectiveness of *Bombus impatiens* as pollinators of green house sweet pepper (*Capsicum annun* sp) . *Acta Horticulturae*. (437): 425-429p.
37. Michener C. 2000. *The Bees of The World*. Second Edition. The Johns Hopkins University Press. 953p
38. Mineau, P.; Dawson, M.; Whiteside, C.; Morrison, K.; Harding, L.; Singh, T. Längle, D y McQueen, A. 2008. Environmental Risk-Based Standards for Pesticide Use in Canada: Supporting Tables for the Synthesis Report and Proof of Concept. National Agri-Environmental Standards Initiative Technical Series Report. (4):22. 151 p.
39. Morales, C. 2007. Introducción de abejorros (*Bombus*) no nativos: causas, consecuencias ecológicas y perspectivas. *Ecología Austral* (17): 51-65p.
40. Nates G. and Gonzalez V.H. 2000. Las abejas silvestres de Colombia: Porqué y cómo conservarlas. *Acta Biológica Colombiana* 5: 5-37.

41. Nates G. and Parra A. 2006. Uso de abejas silvestres en la definición de áreas prioritarias de conservación en el territorio de la CAR (Scientific note). *Tacayá* 14: 4-7.
42. Nuez, F.; Costa, O y Gil, R. 2003. El cultivo de pimentón, Chile y ajíes. Reimpresión: Ediciones Mundi-Prensa. Barcelona España. 611p.
43. Nuez-Viñals, F., Gil-Ortega, R. y Costa-García, J. 1996. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 607 p.
44. Oliveira, D. 1997. Insect pollinators and integrated production management. In: Proceedings of the International Symposium on Pollination. Ed: K.W. Richards. *Acta Horticulturae* 437 p.
45. Oliveira, D.; Magalhaes, B.; Silva, L.; Sarmiento, E y Abrahao, I. 2005. Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subitida* on greenhouse sweet pepper. *Pesq Agropec bras. Brazil.* (40): 1197-1201 p.
46. Osorno E. and Osorno H. 1938. Notas biológicas sobre algunas especies de *Bombus* de los alrededores de Bogotá, Colombia, Sur América. *Rev. Entomol.* 9 :31-39.
47. Ospina T., Lievano R. A. and Nates G. 1987. El patrón de coloración del abejorro social *Bombus atratus*, Franklin, en Cundinamarca, Colombia: una población diferenciada. *Rev. Biol. Trop.* 35: 317-324.
48. Palma, G.; Quezada-Euán J.; Meléndez V.; Irigoyen J.; Valdovinos-Nuñez, G y Rejón M. 2008. Comparative efficiency of *Nannotrigona perilampoides*, *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apoidea), and mechanical vibration on fruit production of enclosed habanero pepper, *J. Econ. Entomol.* (101): 132–138p.
49. Palomino, E.; Mori, E.; Zimback, L.; Tambarussi, E y Moraes, C. 2005. Genetic diversity of common bean genotypes of Carioca commercial group using RAPD markers. *Crop. Breeding and Applied Biotechnology* (5): 80-85 p.
50. Prŷ-jones, O. y Corbet, A. 1991. Bumblebees. *Naturalists Handbooks* , Volume 6. Cambridge University Press, New York. 92p

51. Rasmussen, K. 1985. Pollination of pepper: results from two years experiment. *Gartner Tidende*, v.101, p.830-831
52. Roldán Serrano, A y Guerra-Sanz, J. 2006. Quality fruit improvement in sweet pepper culture by bumblebee pollination. *Scientia Horticulturae*. (110): 160-166p.
53. Ruiz, L y Herrera, R. 2001. Preliminary observations on foraging activities of *Bombus dalhombii* and *Bombus terrestris* (Hymenoptera:Apidae) on native and non-native vegetation in Chile. *International Society for Horticultural Science*. (561): 165-169p.
54. Schoonhoven, M y Blom, F. (1988). Chemoreception and feeding behavior in a caterpillar: towards a model of brain functioning in insects. *Entomol. Exp. Appl.* (49): 123-129 p.
55. Tomson J.D. 1983. Component analysis of community-level interactions in pollination systems. In: Jones E. and Little, J. (Eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Scientific and Academic Editions, New York, pp. 451-460.
56. Torres, A., Jones, R., y Barajas, R. A. 2013. Present and Potential use of Bees as Managed Pollinators in Mexico 1. *Southwestern Entomologist*,38(1), 133-148p.
57. Velthuis H y van Doorn, A. 2006. A century of advances in domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie* 37: 421-451
58. Vergara, C. 2008. Environment a limpact of exotic bees introduced for crop pollination. *Bee pollination in agricultural ecosystems*. Eds James RR and Pitts-Singer TL. Oxford University Press, Oxford, UK, 145-165 p.
59. Vidal, J. 2000. Efectos del factor térmico en el desarrollo y crecimiento inicial de pimiento (*capsicum annum* l.) cultivado en campo. U. Nacional de Tucuman. 43p.
60. VILORIA, A. 1991. Respuesta de las variables de crecimiento vegetativo y reproductivo del pimentón (*Capsicum annum* L.) a la presión poblacional.



Trabajo de Ascenso. Barquisimeto. Venezuela. Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Agronomía. 102 p.

61. Whittington, R y Winston, M. 2004. Comparison and Examination of *Bombus occidentalis* and *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) in Tomato Greenhouses. *Journal y Economic Entomology*. (4): 1384-1389p.
62. Winter K.; Adams L.; Thorp R.W.; Inouye D.W.; Day L.; Ascher J.; Buchmann S. 2006. Importation of non-native bumble bees into North America: potential consequences of using *Bombus terrestris* and other non-native bumble bees for greenhouse crop pollination in Canada, Mexico, and the United States, 33 p.
63. Zuluaga, J y Aguilar, M. 2010. Foraging behavior of *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae) in Andean Blackberry crop (*Rubus glaucus*) and its effect on fruit development. *Anais do IX. Encontro sobre Abelhas, Ribeirao Preto. Brasil*. 379p.

## 9. ANEXOS (TABLAS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS)

### 9.1 Receptividad del Estigma

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	0.4822	0.2456	1.963	0.0496 *
MOMENTOTARDE	-0.2028	0.2743	-0.739	0.4597
ESTADIOE2	1.5240	0.3602	4.231	2.33e-05 ***
ESTADIOE3	-1.5918	0.3127	-5.090	3.58e-07 ***

### 9.2 Producción de Néctar

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
ESTADIO	2	2.069	1.0346	6.283	0.00241 **
Residuals	147	24.204	0.1647		

### 9.3 Producción de Semilla

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
ESTRATO	2	11815	5907	2.297	0.105
POLINIZACION	1	261707	261707	101.769	<2e-16 ***
ESTRATO:POLINIZACION	2	211	106	0.041	0.960
Residuals	124	318877	2572		

### 9.4 Producción de Largo

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
ESTRATO	2	88.0	43.99	10.461	6.33e-05 ***
POLINIZACION	1	97.0	97.02	23.070	4.42e-06 ***
ESTRATO:POLINIZACION	2	1.5	0.74	0.175	0.84
Residuals	124	521.5	4.21		

### 9.5 Peso Seco

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
ESTRATO	2	452.6	226.3	138.601	< 2e-16 ***
POLINIZACION	1	599.0	599.0	366.835	< 2e-16 ***
ESTRATO:POLINIZACION	2	23.3	11.6	7.126	0.00118 **
Residuals	124	202.5	1.6		

### 9.6 Malformaciones

	post.mean	I -95% CI	u-95% CI	eff.samp	pMCMC
(Intercept)	-290.196	-461.139	-58.875	4.328	<0.001 ***
ESTRATOE2	-3.496	-84.283	66.328	41.900	0.964
ESTRATOE3	-12.509	-104.526	73.107	21.611	0.748
POLINIZACIONAUTO	217.150	48.654	370.326	3.314	<0.001 ***