

## TECNOLOGÍA APIVECTOR: ORIGEN, COMPONENTES Y DESARROLLO

### *APIVECTORED TECHNOLOGY: ORIGIN, COMPONENTS AND DEVELOPMENT*

Saira Espinosa S.<sup>1\*</sup>, Andrés Sánchez A.<sup>2</sup>, Peter G. Kevan <sup>3</sup>, Judith Figueroa R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de investigación AYNI, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Grupo de investigación AYNI, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia/Compañía Campo Colombia SAS,

<sup>3</sup> Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad de Guelph, Ontario, Canadá.

\*Autor de contacto: smespinosas@unal.edu.co

### RESUMEN

La Tecnología Apivector, representa una alternativa sostenible para el manejo preventivo de plagas y enfermedades en cultivos agrícolas, basada en el conocimiento de las relaciones multitrópicas desarrolladas por miles de años entre polinizadores, plantas y patógenos; utiliza un innovador método de control: la inoculación de abejas con biocontroladores para ser dispersados por los insectos en el proceso de pecoreo. Este mecanismo permite manejar poblaciones de patógenos y plagas, principalmente en flores y frutos. La tecnología se ha implementado en cultivos como fresa, frambuesa, peral, manzano, girasol, canola y tomate, entre otros. En el presente documento, se muestran las bases de la Tecnología Apivector y se define cada componente, así mismo, se presenta el desarrollo histórico de la tecnología al hacer un recorrido por diferentes estudios realizados alrededor del mundo.

**Palabras Clave:** Polinización, Control biológico, Entomovector, Apivector, agroecología, abejas.

### ABSTRACT

Apivector technology represents a sustainable alternative for the preventive management of pests and diseases in crops, knowledge and multitrophic relationships developed for miles of years between pollinators, plants and pathogens; It uses an innovative method of control: the inoculation of bees with biocontrollers to be dispersed by insects in the pecking process. This mechanism allows managing populations of pathogens and pests, mainly flowers and fruits. The technology has been implemented in crops such as strawberry, raspberry, pear, apple, sunflower, canola and tomato, among others. In this document, the bases of the technology are shown. Apivector and each component is defined, likewise, the historical development of the technology is presented.

**Keywords:** Pollination, Biological control, Entomovectored, Apivectoring agroecology, bees.

## 1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de tecnologías alternativas de control de plagas y enfermedades con enfoque ecológico, ha tomado relevancia en los últimos años, debido a las exigencias cada vez más estrictas de los mercados, que demandan alimentos inocuos y de alta calidad (Gnanamanickam, 2002) y la necesidad de disminuir el impacto negativo de los productos de origen químico, tanto en el medio ambiente como en la salud de productores y consumidores (Fernandez *et al.*, 2015). Por lo anterior, el uso de abejas como vectores de agentes de control biológico, para el manejo de plagas y enfermedades, representa una valiosa alternativa en el marco de los programas de Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE).

La Tecnología Apivector se desarrolló a inicios de los 90's, por Investigadores de la Universidad de Guelph (Kevan *et al.*, 2003), desde entonces, múltiples investigaciones se han llevado a cabo, con el fin de evaluar su impacto en el manejo de plagas y enfermedades, en diferentes cultivos, usando diversos modelos de dispensador de inóculo, polinizadores y agentes de control biológico (MCA-Microbiological Control Agents). El presente documento muestra las bases de la Tecnología Apivector, define cada componente y explica las condiciones necesarias para la implementación exitosa de la misma, así mismo, discute los resultados de diversos estudios realizados sobre el tema alrededor del mundo.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión de publicaciones científicas realizadas desde inicios de los 90's, momento en el cual se realizaron las primeras pruebas de la Tecnología Apivector en Canadá. Dichas publicaciones incluyen artículos originales resultado de investigaciones adelantadas en todo el mundo y capítulos de libros que dan cuenta de los fundamentos de la tecnología. Se revisaron 3 aspectos fundamentales, i. Componentes ii. Desarrollo de dispensadores y iii. Reportes de implementación.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al observar las relaciones multitrópicas que se dan naturalmente en los ecosistemas, se destaca el proceso coevolutivo de plantas y polinizadores (Johnson & Anderson, 2010; Shimizu *et al.*, 2014), en este proceso también se desarrollaron interacciones de microorganismos, espe-

cialmente agentes fitopatógenos que pueden ser transmitidos por el polinizador de manera pasiva (Agrios, 2005), lo que ocurre cuando estructuras del microorganismo se adhieren a las vellosidades del cuerpo del polinizador, logrando ser transportado de manera subsecuente a otras plantas, dando como resultado la diseminación del microorganismo (Leach 1935, citado en Reeh, 2012), por ejemplo, *Monilinia vaccinii-corymbosi*, causante de la enfermedad de la momificación de los arándanos, ha desarrollado una estrategia muy específica para ser diseminada por los polinizadores, este microorganismo produce conidias sobre los brotes de la planta, estos se vuelven reflectantes de la luz ultra violeta, secretan azúcares y fragancias que imitan síndromes florales y atraen a insectos polinizadores que posteriormente transportan las esporas del patógeno hacia flores sanas, aumentando el número de bayas infectadas; esta fue la base para desarrollar la Tecnología Apivector (Apivectoring/ Apivectoring Technology), ya que en lugar de dispersar patógenos, los vectores son usados para dispersar agentes de control biológico (Kevan *et al.*, 2003; Kevan *et al.*, 2008 ; Mommaerts & Smagghe, 2011), que promueven el control de plagas y enfermedades en flores y frutos, principalmente.

El primer paso en el desarrollo de la tecnología, fue diseñar un dispositivo que permitiera inocular las abejas con biocontroladores, se creó un dispensador de inóculo diseñado para encajar en las colmenas, este ensayo se condujo inoculando abejas melíferas (*A. mellifera*) con *Clonostachys rosea* (*Gliocladium roseum*), y evaluando la capacidad de carga de las abejas, la capacidad de dispersión de *C. roseum* en las flores y la supresión de *Botrytis cinerea*, en flores y frutos de fresa (*Fragaria x ananassa*), tanto en invernadero como en campo abierto. Se concluyó que las abejas transfirieron con eficacia el inóculo de *C. roseum* de los dispensadores a las flores de fresa, y que el inóculo transferido disminuyó de manera importante la incidencia de *B. cinerea* en flores y frutos (Peng *et al.*, 1992). Estudios posteriores evidenciarían que al implementar la Tecnología Apivector, no solo se obtiene el manejo exitoso de poblaciones de microorganismos fitopatógenos y/o organismos plaga, sino que también se reduce la aplicación de pesticidas sintéticos, limitando el riesgo de su impacto en la salud humana, el medio ambiente, y el desarrollo de resistencia por parte de patógenos y/o plagas (Smagghe, *et al.*, 2012).

### 3.1. Tecnología Apivector: Componentes

La tecnología Apivector se desarrolló siguiendo un enfoque holístico, en el cual, se tiene en cuenta la interacción de diferentes componentes. El éxito de este método de control depende de:

- La selección correcta del vector.
- Potencial de antagonismo del Agente de Control Biológico (MCA).
- La significancia del diluyente y la formulación.
- La selección de un dispensador.
- La seguridad tanto del vector como del productor y el consumidor (Kevan *et al.*, 2003, Kevan *et al.*, 2008; Mommaerts & Smaghe, 2011; Smaghe, *et al.*, 2012).

A continuación se describen cada uno de los factores descritos anteriormente.

#### 3.1.1. Vector

Un vector en este contexto, se define como un insecto (en este caso abejas), que puede adquirir y dispersar un microorganismo o sustancia para el control de plagas y/o enfermedades (Kovach *et al.*, 2000; Kevan *et al.*, 2003; Reeh, 2012). Las principales abejas utilizadas como vectores en la tecnología Apivector son las abejas melíferas (*Apis mellifera*) y abejorros (*Bombus impatiens* Cresson Hymenoptera: Apidae, *Bombus terrestris* L. Hymenoptera: Apidae) (Kovach *et al.*, 2000; Kevan *et al.*, 2003), se conocen también algunas investigaciones con abejas nativas de hábitos solitarios, específicamente abeja albañil (*Osmia cornuta* Latreille Hymenoptera: Megachilidae) (Maccagnani *et al.*, 2006), y abeja cortadora de las hojas de la alfalfa (*Megachile rotundata*), pero estas son solo cinco de las 20.000 especies de abejas existentes en el mundo (FAO, 2016), por lo cual aún hay un gran potencial de desarrollo inexplorado.

El número limitado de especies utilizadas como vectores puede explicarse por su disponibilidad a nivel comercial, solo abejas melíferas (*A. mellifera*) y abejorros (*Bombus* spp.) están disponibles todo el año (Mommaerts & Smaghe, 2011) y en cantidades suficientes, aún en países con estaciones, cuya producción en invierno se concentra principalmente en invernaderos y se pueden sincronizar con el periodo de floración de los cultivos (Mommaerts & Smaghe, 2011).

La adquisición del agente biocontrolador por parte del vector, no solamente depende de la formulación, sino

también de las características del cuerpo del insecto, el comportamiento del mismo y el tipo de dispensador de inóculo (Smaghe, *et al.*, 2012).

Para un transporte eficiente del biocontrolador a la planta, es necesario que el vector se vea atraído por las flores de la misma, la tasa de visitas del vector depende de: 1. Población de insectos, haciendo referencia a la relación entre el número de abejas frente a otros hexápodos, que compiten por las recompensas producidas por la flor, sin que necesariamente los competidores lleven a cabo un proceso eficiente de polinización y de dispersión del agente biocontrolador. Por otro lado poblaciones de abejas silvestres, asociadas al cultivo incrementan de manera general los niveles de polinización (Klatt, 2013) pollination contributes to one third of global crop production and is an ecosystem service of high commercial and social importance. Bees are the most important crop pollinators, but they are endangered by several anthropogenic impacts, in particular agricultural intensification. Facing rising global demands for food and energy in the background of a growing world population, the prevention of an impending pollinator crisis attracts increasing interest from the public, policymakers and scientists. However, despite new reports on crop pollination are frequently arising, pollination research seems still at the beginning and our knowledge on crop pollination by bees at various scales is scarce. This work aims to explore so far unknown benefits of bee pollination to highlight its overall importance. It is also focused on the main drivers of crop pollination by bees at different spatial scales, using strawberries as a study organism. The first part (chapter 2, y pueden indirectamente dispersar el biocontrolador (Maccagnani *et al.*, 2009). 2. Síndromes florales: preferencias innatas o aprendidas, que incluyen tamaño de la flor, color, olor, temperatura y recompensas; se ha demostrado que la composición química, la cantidad de polen y néctar de las flores del cultivo afectan significativamente el comportamiento de visitas de las abejas (Leonhardt & Blüthgen, 2012; Karise, 2016a). Por ejemplo, los abejorros parecen seleccionar el “mejor” polen y centrarse en la calidad en lugar de la cantidad, en contraposición con *A. mellifera* que prefiriere explorar una gran área de recursos haciendo menos énfasis en la calidad nutricional del polen (Leonhardt & Blüthgen, 2012). Además es importante tener en cuenta que dichos síndromes

pueden cambiar incluso entre variedades de la misma especie vegetal, por ejemplo, las diferencias en la emisión de compuestos volátiles de flores entre variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*) determinan su atractivo, pues aunque los compuestos volátiles de cada variedad son los mismos, existen diferencias en la cantidad de cada sustancia volátil y del total de ellas, por lo cual las variedades que producen mayores cantidades de estos compuestos reciben consecuentemente un mayor número de visitas (Klatt, 2013). pollination contributes to one third of global crop production and is an ecosystem service of high commercial and social importance. Bees are the most important crop pollinators, but they are endangered by several anthropogenic impacts, in particular agricultural intensification. Facing rising global demands for food and energy in the background of a growing world population, the prevention of an impending pollinator crisis attracts increasing interest from the public, policymakers and scientists. However, despite new reports on crop pollination are frequently arising, pollination research seems still at the beginning and our knowledge on crop pollination by bees at various scales is scarce. This work aims to explore so far unknown benefits of bee pollination to highlight its overall importance. It is also focused on the main drivers of crop pollination by bees at different spatial scales, using strawberries as a study organism. The first part (chapter 2; Klatt, Burmeister, Westphal, Tscharntke, & von Fragstein, 2013) through both the improvement of the yield and the quality of crops. Volatile compounds emitted by crop flowers mediate plant-pollinator interactions, but differences between crop varieties are still little explored. We investigated whether the visitation of crop flowers is determined by variety-specific flower volatiles using strawberry varieties (*Fragaria x ananassa* Duchesne 3. Poblaciones vegetales asociadas o aledañas al cultivo principal: comunidades de plantas circundantes, afectan el comportamiento de forrajeo en las abejas (Karise, 2016a).

Las condiciones particulares de cada sistema productivo, determinan la escogencia del vector, por ejemplo, los abejorros (*Bombus* spp.), se destacan por su buen desempeño tanto en campo, como en invernadero, ya que son tolerantes a fluctuaciones de temperatura y pueden continuar con el forrajeo, aún bajo condiciones climáticas adversas, son ideales para polinización de solanáceas,

pues tienen la capacidad de desprender el polen a través de la vibración de los músculos del tórax (buzz pollinator) (Almanza, 2007; Smagghe, *et al.*, 2012). El género *Bombus* incluye 39 subgéneros y 239 especies a nivel mundial: (Abrahamovich, 2002), sin embargo, solo las especies *Bombus impatiens* y *Bombus terrestris* se crían de manera exitosa en cautiverio y se comercializan usualmente en zonas templadas de América y Europa (Cure, Almanza, Rodriguez, Vecil, & Aldana, 2007). Por su parte, las abejas melíferas (*A. mellifera*) se pueden considerar una especie cosmopolita, fácilmente adaptable a diferentes ecosistemas y con un gran número de individuos por colmena, estas abejas se destacan por contar con un radio de forrajeo muy amplio, de 3 km, en comparación con los abejorros que se mueven en un radio de 800 a 1500m y *O. cornuta* tan solo entre 100 – 200 m (Bosch & Vicens, 2000). *Malus domestica* Borkh, in northeastern Spain. Yields after one single visit were more than 10 times higher in flowers visited by *O. cornuta* than in those visited by *A. mellifera* nectar gatherers. This is attributed to the lower rate of stigma contact in *A. mellifera* visits, rather than to insufficient deposition of compatible pollen when the stigmas are contacted. *A. mellifera* pollen collectors had very high rates of stigma contact, but they were very scarce (3%; Smagghe, *et al.*, 2012), sin embargo son menos apropiadas que *Bombus* spp. para ser usadas en condiciones de invernadero y más sensibles a condiciones climáticas desfavorables como lluvia y días nublados (Smagghe, *et al.*, 2012).

Las abejas albañil (*O. cornuta*) son nativas del sur y el centro de Europa y se usaron como vectores de MCA en huertos de árboles de pera y manzana, como alternativa al uso de *A. mellifera*, ya que mientras la primera es un polinizador nativo eficiente, con un rango corto de forrajeo, preferencia por las flores de pera y presenta sincronismo entre la actividad forrajera y la floración de esta especie vegetal, el comportamiento de *A. mellifera* se ve afectado por las condiciones de alta nubosidad y precipitación asociadas a los huertos de perales y el poco atractivo de la flor, debido al bajo contenido de azúcar del néctar. En huertos de manzanas, el rendimiento de las flores visitadas por *O. cornuta* fue cinco veces mayor a las visitadas por *A. Mellifera* (Bosch & Vicens, 2000). *Malus domestica* Borkh, in northeastern Spain. Yields after one single visit were more than 10 times higher in flowers visited by *O.*

*cornuta* than in those visited by *A. mellifera* nectar gatherers. This is attributed to the lower rate of stigma contact in *A. mellifera* visits, rather than to insufficient deposition of compatible pollen when the stigmas are contacted. *A. mellifera* pollen collectors had very high rates of stigma contact, but they were very scarce (3%).

En cuanto a *Megachile rotundata*, solo se conoce un ensayo piloto en alfalfa, en el cual se realizó la aplicación del MCA sobre el vector de manera manual, por lo cual aún se requiere un desarrollo importante del sistema.

Aunque los vectores más usados son *A. mellifera* y *Bombus* spp., la gran cantidad de especies de abejas y sus diferentes relaciones de coevolución con especies vegetales de importancia económica, en diversas condiciones ambientales, ofrecen un universo de posibilidades de adaptación de la Tecnología Apivector, desarrollando modelos más eficientes que promuevan además, la conservación de dichas especies.

### 3.1.2. Agentes de Control Microbiológico (MCA)

En el marco de la Tecnología Apivector, se ha evaluado el uso de hongos (*Trichoderma* spp., *Clonostachys* spp., *Metarrhizium anisopliae*, *B. bassiana*), virus (Virus de la Polyhedrosis Nuclear) y bacterias (*Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*), solos o en mezcla, para el manejo de plagas y enfermedades (Gross *et al.*, 1994; Butt *et al.*, 1998), siendo muy frecuentes los primeros, para el control de plagas y enfermedades de cultivos como fresa (*Fragaria x ananassa*), arándanos (*Vaccinium myrtillus*), frutos de hueso (manzano / *Malus domestica*, peral/*Pyrus communis*), tomate (*Solanum lycopersicum*), pimentón (*Capsicum annuum*), canola (*Brassica napus*) y girasol (*Helianthus annuus*), entre otros.

En el caso de Apivector, además debe ser seguro para las abejas, por ejemplo, al usar hongos entomopatógenos se debe tener en cuenta que el MCA sea selectivo al insecto plaga y no parasite a los vectores, si esto no es posible, entonces se debe evaluar la mortalidad de la colmena y hacer una relación costo beneficio, que permita decidir si la aplicación del MCA es viable (Butt *et al.*, 1998; Kevan *et al.*, 2003; Butt, Wang, Shah, & Hall, 2006).

### 3.1.3. Transporte del agente de control

El éxito del transporte y dispersión de un MCA, depende de la adhesión del biocontrolador al cuerpo del vector,

dicho proceso está determinado por dos factores fundamentales: 1. El excipiente/ vehículo y 2. El diseño del dispensador de inóculo (Mommaerts & Smagghe, 2011).

Las plantas poseen una pequeña carga negativa en la superficie, que se hace más fuerte en las áreas más agudas, como las anteras; mientras que las abejas están cargadas positivamente, ya que durante el vuelo se confrontan con corrientes eléctricas, que causan un efecto electrostático en las vellosidades del cuerpo del insecto (Vaknin, Bechar, Ronen, & Eisikowitch, 2000), lo cual facilita la adherencia del polen y el proceso de polinización, este principio es aprovechado por Apivector, pero debe estar mediado por un vehículo adecuado; el propósito del vehículo es hacer posible el transporte del MCA reduciendo la pérdida del mismo por el movimiento del aire causado en el aleteo durante el vuelo (Kevan *et al.*, 2003; Smagghe, *et al.*, 2012), un vehículo se caracteriza por: 1. Ningún efecto sobre la el MCA, por ejemplo la germinación de esporas de *Trichoderma* spp. y *B. bassiana* es significativamente más lenta cuando se formula con talco (Hjeljord *et al.*, 2000 citado en Kevan *et al.*, 2008); 2. Seguro para el vector; se sabe que algunos minerales afectan negativamente las crías de las abejas y pueden ser irritantes 3. Mejorar la capacidad de transporte del vector, ya que la capacidad de carga de la abeja mejora con la disminución del tamaño de partícula del vehículo (Al Mazra'awi *et al.*, 2006; Kevan *et al.*, 2008; Smagghe, *et al.*, 2012). Las sustancias reportadas como vehículos son: harina de maíz (Peng *et al.*, 1992; Al Mazra'awi, *et al.*, 2006), bentonita (Kevan *et al.*, 2008), harina de trigo, celulosa, caolinita (Karise, *et al.*, 2016 a; Karise *et al.*, 2016 b) y Poliestireno (Butt *et al.*, 1998), aunque este último es muy eficiente, está prohibido su uso en formulaciones comerciales (Smagghe, *et al.*, 2012). Estos materiales se pueden usar en un producto solos o en mezcla, como en el caso de algunas formulaciones comerciales (Vectorite<sup>®</sup>, Binab-T-vector, Prestop<sup>®</sup> Mix).

### 3.1.4. Seguridad.

En el contexto de la tecnología Apivector, la seguridad se define en varios niveles, ya que es un sistema complejo, en el que influyen múltiples componentes:

- **Seguridad para los seres humanos**, con respecto a la formulación y su nivel de toxicidad (tanto para productores, como consumidores), nivel de defensi-

vidad de las abejas y ubicación de las colmenas en el cultivo. Los MCA utilizados en la agricultura, están registrados como productos fitosanitarios y cumplen con toda la normativa relacionada con los riesgos para la salud humana (Smaghe, *et al.*, 2012), usualmente se clasifican dentro de la categoría de toxicidad III o IV, es decir, ligeramente tóxicos, la diferencia con los utilizados en Apivector, es el excipiente o vehículo utilizado, que en este caso es inóculo y no tiene efectos secundarios sobre la salud humana (harina de maíz o bentonita). En cuanto a la defensividad de las abejas, para el caso del trópico, deben ser seleccionadas por baja defensividad, pues en países como Colombia, el 98,3% de las abejas melíferas (*A. mellifera*) presentan algún grado de africanización (Tibatá, *et al.*, 2017), es importante que las colonias mantengan de manera estable esas características. Así mismo, la ubicación de las colmenas es fundamental, lo ideal es que se distribuyan en el centro del cultivo, pues la cantidad de MCA depositado en las flores por el vector, es inversa a la distancia recorrida por el mismo desde la colmena (Maccagnani *et al.*, 2005).

- **Seguridad para los vectores:** con respecto a la formulación del MCA y el manejo fitosanitario del cultivo, pues, algunos plaguicidas incluso a concentraciones subletales pueden inducir cambios significativos en la fisiología y el comportamiento del polinizador, a nivel de orientación, memoria, aprendizaje y alimentación (Thompson & Hunt, 1999; Mommaerts & Smaghe, 2011). Así mismo, se debe tener en cuenta la toxicidad del MCA para el vector, por ejemplo, cuando se usan de entomopatógenos, los efectos secundarios deben ser evaluados en tres niveles: 1. Pérdida de supervivencia (toxicidad) a Corto (agudo) y largo plazo (Crónica) 2.Efectos sub-letales sobre la reproducción de la colonia (población) y 3. El comportamiento de forrajeo de los polinizadores (Smaghe, *et al.*, 2012).

Se ha evaluado la utilización de *B. thuringiensis* (Bt), *B. bassiana* GHA, *M. anisopliae* y Nuclear Polyhedrosis Virus (HNPV), los efectos sobre los vectores dependen principalmente de las características de cada especie y el estadio en que se encuentre al momento del contacto (adulto vs. larva) (Kevan *et al.*, 2008). Mientras que Bt ha demostrado ser seguro para adul-

tos de abejas melíferas (*A. mellifera*), se ha reportado mortalidad en obreras de *B. terrestris* (Kevan *et al.*, 2008). Así mismo, los abejorros son más sensibles a *B. bassiana* GHA que *A. mellifera*, en algunos casos al evaluar la relación costo/beneficio se obtiene un nivel aceptable de supervivencia, por ejemplo, Kapongo *et al.*, (2008), obtuvo una la mortalidad de 14% de los vectores y un nivel de eficacia satisfactorio de control de plagas (40%), lo que justificó el uso de *B. bassiana*. Con respecto a *M. anisopliae*, se han reportado riesgos mínimos para el vector (Smaghe, *et al.*, 2013), e incluso se ha utilizado para el control del acaro *Varroa destructor* (James *et al.*, 2006 citado en Mommaerts & Smaghe, 2011).

- **Seguridad para el Medio ambiente:** con respecto al impacto y/o efectos residuales de la implementación de la Tecnología Apivector, esta permite la disminución de las aplicaciones de pesticidas de origen químico, que son muy persistentes en el ambiente (Thompson & Hunt, 1999; Mommaerts & Smaghe, 2011), no obstante, al trabajar con organismos vivos, se debe considerar el riesgo que se representa al alterar poblaciones benéficas nativas tanto de biocontroladores como de abejas, bien sea por competencia o por transmisión de enfermedades (Maccagnani *et al.*, 2009).

### 3.2. Desarrollo de dispensadores de inóculo

El dispensador de inóculo, es un dispositivo compuesto básicamente por uno o dos accesos y una bandeja de carga; de acuerdo al vector, el diseño puede incluir un área frontal de ingreso de luz, compuertas u otras adaptaciones que dependen del comportamiento del mismo. Los materiales usados en la construcción del dispensador son principalmente en madera o polimetilmetacrilato (Plexiglás), y pueden ubicarse en la parte superior o inferior de la colmena, además puede o no incluirse un diseño interno que obligue al vector a realizar un recorrido mayor y por ende facilite la adquisición del inóculo (Kevan *et al.*, 2003; Bilu, *et al.*, 2004 Smaghe, *et al.*, 2012). el primero fue desarrollado por Peng, (1992) a partir de dispositivos dispensadores de polen (Peng *et al.*, 1992; Kevan *et al.*, 2003, Kevan *et al.*, 2008).

Los dispensadores de inóculo deben cumplir con tres criterios: i. ser seguro para el vector, no debe interferir con el comportamiento de forrajeo; ii. Facilitar la adqui-

sición del biocontrolador y iii. Intervalos de recarga superiores a un día.

Se han desarrollado dos modelos básicos:

- **Dispensadores de una vía:** las abejas entran y salen por la misma cavidad, en general muestran una baja adquisición del agente de control y demandan recargas diarias (Smagghe, *et al.*, 2012); por ejemplo, al usar el dispensador SSP unidireccional sólo el 13% de los abejorros evaluados se inocularon con el MCA (Maccagnani *et al.*, 2005; Mommaerts & Smagghe, 2011)
- **Dispensadores de dos vías:** se caracterizan por contar con cámaras separadas para la entrada y salida del vector, donde la primera no contiene el MCA (Smagghe, *et al.*, 2012), hace más eficiente el proceso de inoculación, pues, el vector solo se carga al salir de la colmena y no al entrar, lo cual permite que el MCA, se dirija al cultivo y no al interior de la colmena, minimizando la contaminación de la misma. Esto es fundamental al tratar con organismos entomopatógenos, pues disminuye la mortalidad de las colonias. Además, reduce las pérdidas del MCA, requiriéndose menor cantidad y/o mayores intervalos de recarga (Kevan *et al.*, 2003; Bilu *et al.*, 2004; Smagghe, *et al.*, 2012).

En general se han diseñado alrededor de 6 dispositivos para Abejas melíferas (Eilenberg & Hokkanen, 2006), con una capacidad de inoculación de  $10^5$  UFC/ por abeja o más y un nivel dispersión del biocontrolador, entre  $10^3$  y  $10^5$  UFC por flor (Mommaerts & Smagghe, 2011). Uno de los modelos más destacados es el Triwaks (dispensador de 2 vías con una división diagonal para separar la salida y la entrada, además subdivisiones en la cámara de recarga), que logra cargar a los vectores entre 2,6 y 3,4 veces más inóculo que los demás modelos (Bilu *et al.*, 2004).

En el caso de *Bombus* spp. se han diseñado 8 modelos, al evaluar SSP-dispenser (Yu & Sutton, 1997), que cuenta con áreas separadas para entrada y salida de la colmena al dispensador, pero un área común de entrada y salida del dispensador al exterior y subdivisiones en la bandeja de recarga, y el OP-dispenser (Maccagnani *et al.*, 2005), que cuenta con un diseño independiente de entrada y salida, en el que la entrada es de forma cónica y la salida cuenta con dos pasajes superpuestos en el que el inferior corresponde a la bandeja de recarga y es mucho más estrecho que el superior, este último obtuvo el mejor rendimiento

de carga del vector, pues el 100% de los individuos capturados estaban inoculados en promedio con  $4,3 \times 10^4$  UFC del biocontrolador, mientras que con el primero solo el 12.5% de los abejorros tenían una carga promedio de  $1,3 \times 10^2$  del MCA (Maccagnani *et al.*, 2005), En otro ensayo, se evaluó un dispensador de dos vías cuya longitud era de 20 cm y dos compartimentos rectangulares, dicho dispositivo cargo diez veces más MCA, que el modelo de referencia SSP, y el periodo de recarga fue de tres días (Mommaerts & Smagghe, 2011). Así mismo, Reeh & Cutler, (2013), evaluaron tres modelos de dispositivo de inoculación para *Bombus* sp., determinado que el modelo de dos vías construido con plexiglás al cual se adecuó con un agujero de ventilación (Modelo Houle), evito la aglutinación del producto, fue más resistente, confiable y fácil de usar que los demás modelos evaluados.

Con respecto a *O. cornuta*, a la fecha, sólo un dispensador ha sido desarrollado (Maccagnani *et al.*, 2006), sin embargo, se considera muy eficiente, debido a que entre 81,4% y el 97,7%, de los insectos evaluados capturados estaban inoculados con entre  $10^4$  –  $10^7$  UFC por Abeja.

### 3.3. Reportes de implementación de la Tecnología Apivector

La Tecnología Apivector como estrategia de control biológico, se ha desarrollado en tres niveles, i. Control de enfermedades, ii. Control de plagas y iii. Control de malezas, su objetivo es realizar un manejo dirigido y de precisión y promueve la disminución de aplicaciones de pesticidas de síntesis química (Mommaerts *et al.*, 2012), a continuación, se presentan los diferentes estudios realizados en cada nivel:

#### 3.3.1. Control de enfermedades

El primer estudio en manejo de Enfermedades, evaluó el uso de abejas (*A. mellifera*) como vector de *Gliocadium roseum*, para el control de *B. cinerea*, reportando una carga del vector entre  $3,6 - 32,0 \times 10^4$  UFC/abeja en invernadero y  $8,8 - 180 \times 10^4$  UFC/abeja en campo abierto, una inoculación de flores variable entre  $1,5 \times 10^3$  y  $2,2 \times 10^4$  UFC/Flor en invernadero y  $3,0 \times 10^2$  y  $2,7 \times 10^4$  UFC/Flor en campo abierto, y la supresión de la enfermedad entre 48 y 64% (Peng *et al.*, 1992). Posteriormente, se condujo un ensayo similar en frambuesa, obteniendo un porcentaje supresión de *B. cinerea* entre 68 y 90% (Sutton

*et al.*, 1997). Así mismo, en un ensayo implementado en Finlandia, Estonia, Italia, Eslovenia y Turquía, durante los años 2006 a 2014, en el que se realizaron 26 pruebas de campo utilizando *Gliocladium catenulatum* dispersado por *A. mellifera* y *Bombus* spp., en fresa, y cinco pruebas adicionales en frambuesa (*Rubus idaeus*), se reportó una reducción de la enfermedad entre el 47% y el 66%, que fue equivalente al nivel de control obtenido con el manejo químico (Hokkanen *et al.*, 2015).

En otro estudio, se evaluó la efectividad de control *T. harzianum* sobre de *B. cinerea* en fresa (*Fragaria chiloensis*), se concluyó que las flores de los tratamientos con abejas tenían la mitad de la densidad de *T. harzianum*, que los tratamientos en los que se aplicó el controlador con fumigadora, pero el nivel de control de *B. cinerea*, fue el mismo, además los tratamientos con Apivector, tenían 22% más semillas y un peso entre 26 y 40% mayor que los tratamientos no visitados por abejas, el número de semillas y el peso en tratamientos de control químico visitados por abejas se redujo entre 7 y 12%, indicando que el uso de fungicidas podrían tener un impacto en la polinización y en el rendimiento. (Kovach *et al.*, 2000). Cabe aclarar que, cuando la dispersión de *T. harzianum* por *A. mellifera* o *B. impatiens* es efectiva y la incidencia de *B. cinerea* es baja o media, se logran resultados similares a los obtenidos con el control químico, mientras que cuando es alta ninguno de los dos logra la supresión de la enfermedad (Shafir *et al.*, 2006).

Al comparar la capacidad de dispersión de *Trichoderma* sp. por *A. mellifera* en campo abierto y *Bombus terrestris* en invernadero, en flores de fresa, usando un dispensador de inóculo tipo Houle, se determinó que entre el 33,33% y 34,78%, de las flores visitadas por *A. mellifera* presentaron entre  $26.27 \pm 87.99$  UFC/flor y  $1,1 \times 10^2 \pm 2,2 \times 10^2$  UFC/flor y cada abeja acarreo  $3.92 \times 10^3 \pm 1.73 \times 10^3$  UFC del biocontrolador, mientras que *Bombus terrestris* logro una dispersión entre el 75 y 100%, de las flores evaluadas, que presentaron entre  $1.25 \times 10^3 \pm 8.97 \times 10^2$  UFC/flor y  $123.44 \pm 196.01$  UFC/flor, cada abejorro acarreo  $7.19 \times 10^4 \pm 2.17 \times 10^4$  UFC (Albano *et al.*, 2009), lo anterior concuerda con lo reportado por Soboksa, (2014), quien menciona que tanto abejas como abejorros acarrear suficiente cantidad de biofungicida, y en ambos casos obtuvo una reducción de la incidencia de *B. cinerea* en frutos de fresa, en comparación con los tratamientos control, pero

con los abejorros el nivel de control fue superior. Así mismo, en otro estudio en el que se usó *G. catenulatum*, en un modelo similar, se evidenció que el 71% de las flores se convirtieron en frutos sanos, en comparación con el 54% obtenido en los controles, además, 79% de las bayas recolectadas no desarrollaron *B. cinerea* en poscosecha (Mommaerts & Smagghe, 2011).

El cultivo de arándanos es típicamente polinizado por abejas, lo que facilita la implementación de Apivector (Reeh, 2012; Reeh *et al.*, 2014; Karise *et al.*, (2016) b., por lo cual, se ha evaluado el uso de *Bacillus subtilis* (Dedej *et al.* 2004) y *Streptomyces griseoviridis* y *Gliocladium catenulatum* (Smith *et al.*, 2012), para el manejo de *Monilinia vaccinii corymbosi* y *B. cinerea* respectivamente. En un modelo de manejo preventivo, se estableció que cada abeja podía acarrear entre  $5.1-6.4 \times 10^5$  (UFC) de *B. subtilis* y depositar  $1 \times 10^3$  UFC del MCA por flor (Dedej *et al.* 2004), otro estudio, reporta un porcentaje de control *B. cinerea* de 71%, con respecto 52% del testigo, (Smith *et al.*, 2012); cabe resaltar, que las condiciones climáticas son un factor determinante en el éxito de la tecnología, para este caso, por ejemplo, la presión de la enfermedad se incrementa cuando la humedad relativa y las precipitaciones son altas, por lo cual, el control es difícil incluso con fungicidas químicos (Reeh, 2012; Karise *et al.*, (2016) b.

En girasol (*Helianthus annuus*), se encontró que con 100 g de una mezcla de cepas de *Trichoderma* spp. (*T. koningii*, *T. aureoviride*, *T. longibrachiatum* y *T. harzianum*), dispersadas por *A. mellifera*, durante 10 horas/día, la incidencia de la enfermedad se redujo significativamente, obteniendo un 53% en el tratamiento Apivector con respecto al tratamiento control, en el que se registró una Incidencia de 74% (Escande *et al.*, 2002), mientras que al usar *Clonostachys rosea* y *Bombus* sp. se reportan porcentajes de control de la enfermedad, entre 70 y 100% (Sutton & Kevan, 2013).

En alfalfa (*Medicago sativa*) se evaluó *Coniothyrium minitans* y *Trichoderma atroviride* en la supresión de *S. sclerotiorum*, dispersados por *Megachile rotundata*, una abeja nativa europea de tipo solitario, este ensayo demostró que *C. minitans* es un efectivo agente de control de *S. sclerotiorum* en las partes aéreas de plantas de alfalfa, mientras que *T. atroviride* fue menos efectivo, en cuanto a la dispersión realizada por *M. rotundata* se observó que aunque son eficientes polinizadores de alfalfa, su com-



portamiento solitario puede limitar la transferencia de esporas de hongos de sus nidos en comparación con las abejas melíferas (Li, Huang, Acharya & Erickson, 2005).

En otro estudio, realizado en huertos de manzanas y peras para control de *Erwinia amylovora*, usando *Pseudomonas fluorescens* (MCA) dispersado por *A. mellifera*, se encontró una dispersión en flores de 27 a 41%. La incidencia de la enfermedad estuvo entre 9 y 41% en flores y la eficiencia de abejas como vectores, fue de 20 flores por hora de actividad forrajera/abeja (Johnson *et al.*, 1993). Así mismo, se evaluaron tres especies de bacterias biocontroladoras (*Pantoea agglomerans* a.k.a., *Erwinia herbicola* y *Enetrobacter agglomerans*), registrando una dispersión en flores del 70%, se concluye, que este modelo podría ser un método útil para inocular flores de especies de frutos de hueso, sin embargo, se observó que las bajas temperaturas pueden reducir el número de bacterias por flor limitando la capacidad del biocontrolador (Vanneste, 1996; Vanneste *et al.*, 1999; Vanneste, Cornish, Yu y Vogle, 2002), otro inconveniente, fue la sensibilidad de las abejas melíferas a condiciones climáticas adversas (Smagghe, *et al.*, 2012), por lo cual se evaluó el uso de *O. cornuta*, que naturalmente está asociada a huertos de caducifolios, concluyendo que es más eficiente como vector de *T. harzianum*, en las condiciones particulares de estos sistemas productivos, ya que depositan entre  $10^4$  y  $10^7$  UFC por flor, con respecto a los  $10^4$  de *A. mellifera* (Maccagnani *et al.*, 2006), esto se debe principalmente a que *O. cornuta* realiza hasta 6 visitas más por flor que *A. mellifera* (Smagghe *et al.*, 2012), además, se evaluó la capacidad de las dos especies como vectores secundarios de dispersión de *B. subtilis*, concluyendo que al asperjar las flores mecánicamente, estas se convierten en fuentes secundarias de inóculo, alcanzando una mayor eficacia en el control de fuego bacteriano del peral (Maccagnani *et al.*, 2009).

### 3.3.2. Control de plagas

El primer estudio en control de plagas usando biocontroladores específicos de bajo impacto para las abejas, se realizó usando el Virus de la Poliedrosis nuclear (HNPNV) para el manejo de *Helicoverpa zea*, en un diseño experimental con trébol rojo (*Trifolium incarnatum* L.), como resultado se obtuvo una mortalidad de 17 a 42 veces mayor con respecto al control (Gross *et al.*, 1994). Esto se confirmó al usar *Metarhizium anisopliae* dispersado por *A.*

*mellifera*, para el control de escarabajos del polen (*Meligethes aeneus*) en canola (*Brassica napus*) (Butt, *et al.*, 1994; Butt, *et al.*, 1998), no hubo evidencia de ningún efecto adverso para los vectores, además se obtuvieron porcentajes de control del insecto plaga (insectos que desarrollaron micosis) entre 57- 98% en época seca y en invierno 31- 41% (Butt *et al.*, 1998). En ese mismo sentido, en Canola (*B. napus* L.) se reporta una mortalidad significativa mayor al 70% de *Meligethes aeneus* y *Ceutorhynchys assimilis*, con *M. anisopliae*, dispersado por abejas, Carrreck *et al.* (2007) y al usar de *B. bassiana* para el control de *Lygus lineolaris*, reportan que se recuperaron esporas del MCA del 100% de las abejas muestreadas, 64-77% de flores, 70-82% hojas y 47-83% de individuos de *Lygus lineolaris*, además la mortalidad de *Lygus lineolaris* estuvo entre 56 y 22% en los tratamientos con Apivector, mientras con el control absoluto, se obtuvo una mortalidad entre 9% y 22%, por lo que se concluye que Apivector es una alternativa viable para el manejo de *L. lineolaris*; obteniendo también una menor dependencia de los insecticidas sintéticos (Al Mazra'awi *et al.*, 2006).

Así mismo, se usó *A. mellifera* para dispersar *B. thuringiensis*, con el objetivo de controlar la polilla de bandas del girasol (*Cochylis hospes*, Lepidoptera: Tortricidae), se encontró que el control obtenido con la tecnología Apivector fue similar a la aspersión tradicional, pero con la primera se obtuvo un aumento del 4% en la producción y un 1% en el contenido de aceite, esto se tradujo en un aumento del 33,3% de ganancias por Ha. (Jyoti & Brewer, 1999).

Por otra parte, se ha evaluado el uso de MCA combinados para el control simultáneo de plagas y enfermedades, Kapongo *et al.*, (2008) probó la eficacia de abejorros en la dispersión de *Clonostachys rosea* y *Beauveria Bassiana* para control de moho gris (*B. cinerea*), chinche *Lygus* (*Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois) y mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en tomate de invernadero y pimentón, se reportó una mortalidad significativa de *T. vaporariorum* 49% y la supresión de *B. cinerea* en flores 57% y hojas 46% de tomate y en pimentón una mortalidad de 73% de *L. lineolaris* y la supresión de 59% de *Botrytis* en flores y 47% en hojas.

Cabe mencionar que, en el marco del término Entomovector, se propuso la dispersión de agentes de control biológico microbiano a través de depredadores, en este caso se usó larvas de mariquitas (*Harmonia axyridis*) y cri-

sopa verde común (*Chrysoperla carnea*) para dispersar *B. bassiana*, para el control de áfidos. Después de 12 horas de la liberación de los depredadores, las larvas de crisopa dispersaron el 89% de las conidias mientras que los escarabajos asiáticos dispersaron 93%, con lo cual se obtuvo un control de áfidos entre el 88 y el 84% (Zhu & Kim, 2012).

### 3.3.3. Control de arvenses

Una de las primeras consideraciones para el uso de esta tecnología fue el control de arvenses, específicamente se buscaba limitar la producción de semillas de *Asclepias syriaca*, usando una levadura conocida como *Metschnikovia reukaufii*, este microorganismo inhibe la germinación de polinios y habita naturalmente en el néctar de las flores. Se evaluó la aplicación la levadura, para luego ser dispersada con insectos que visitan flores con el objetivo de reducir la fecundidad de las plantas. Este es un modelo bastante complejo y sugiere que las abejas, podrían utilizarse incluso para diseminar productos como el herbicida glufosinato, para interferir con la producción de semillas de arvenses (Kevan *et al.*, 1989; Eisikowitch *et al.*, 1990; Kevan *et al.*, 2008).

## 4. CONCLUSIONES

En los últimos 27 años más de 40 publicaciones relacionadas, demuestran que la tecnología Apivector es una alternativa sostenible, ambiental y económicamente viable, pues se estima, por ejemplo que el costo del manejo químico de *B. cinerea* en bayas entre 500 y 1000 €/Ha, mientras que al usar Tecnología Apivector el costo aproximado es de 300 €/Ha (Hokkanen *et al.*, 2015); sin embargo, también hay que reconocer que posee limitaciones y su aplicación debe enmarcarse en un modelo integrado de manejo de plagas y enfermedades con un enfoque preventivo, que se desarrolle con conocimiento previo de todos los componentes, pues debido a que es un sistema integral cuyos elementos principales son seres vivos, la posibilidad de unificar completamente el sistema está ligada a la variabilidad de cada componente, por lo cual no solamente se requiere el conocimiento de cada uno de ellos sino también de sus diferentes interacciones, esto permitiría hacer las adaptaciones necesarias de acuerdo a las condiciones específicas del sistema productivo en el que se implemente la tecnología y aumentar la probabilidad de éxito de la misma, por lo cual se requiere

el desarrollo de investigaciones de tipo interdisciplinario en los diferentes tópicos que abarca la tecnología, que finalmente permitan hacer desarrollos comerciales de la misma o fortalecer los ya existentes.

## 5. REFERENCIAS

- Abrahamovich, A. H. (2002). Bumble bees of the Neotropical Region (Hymenoptera). *Biota Colombiana*, 3(2), 199–214.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. (D. Dreibeilbis, Ed.) (Fifth). San Diego- California: Elsevier Inc.
- Al Mazra'awi, M. S., Shipp, J. L., Broadbent, A. B., & Kevan, P. G. (2006). Dissemination of *Beauveria bassiana* by honey bees (Hymenoptera: Apidae) for control of tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) on canola. *Environmental Entomology*, 35(6), 1569–1577. Recuperado de: [https://doi.org/10.1603/0046-225x\(2006\)35\[1569:dobbbh\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0046-225x(2006)35[1569:dobbbh]2.0.co;2)
- Albano, S., Chagnon, M., De Oliveira, D., Houle, E., Thibodeau, P. O., & Mexia, A. (2009). Effectiveness of *Apis mellifera* and *Bombus impatiens* as dispersers of the Rootshield® biofungicide (*Trichoderma harzianum*, strain T-22) in a strawberry crop. *Hellenic Plant Protection Journal*, 2(2), 57–66.
- Almanza, M. T. (2007). Management of *Bombus Atratus* Bumblebees to Pollinate Lulo (*Solanum Quitoense* L) a native fruit from the Andes of Colombia. (P. Vlek, Ed.). Göttingen.: CUVILLIER VERLAC. Recuperado de: [https://books.google.com.co/books?id=4S8kmq\\_oDQwC&pg=PA57&lpg=PA57&dq=bombus+colombia&source=bl&ots=WjJSRsln0\\_&sig=\\_2yodksvOsdRQfaKPyMD05eUCw&hl=es&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=bombus colombia&f=false](https://books.google.com.co/books?id=4S8kmq_oDQwC&pg=PA57&lpg=PA57&dq=bombus+colombia&source=bl&ots=WjJSRsln0_&sig=_2yodksvOsdRQfaKPyMD05eUCw&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=bombus colombia&f=false)
- Bilu, A., Dag, A., Elad, Y., & Shafir, S. (2004). Honey bee dispersal of biocontrol agents: An evaluation of dispensing devices. *Biocontrol Science and Technology*, 14(6), 607–617. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/09583150410001682340>
- Bosch, J., & Vicens, N. (2000). Pollinating Efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on “Red Delicious” Apple. *Environmental Entomology*, 29(2), 235–240. [https://doi.org/10.1603/0046-225X\(2000\)029\[0235:PEOCCA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0046-225X(2000)029[0235:PEOCCA]2.0.CO;2)

- Butt, T. M., Carreck, N. L., Ibrahim, L., & Williams, I. H. (1998). Honey-bee-mediated Infection of Pollen Beetle (*Meligethes aeneus* Fab.) by the Insect-pathogenic Fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 8(May 2014), 533–538. <https://doi.org/10.1080/09583159830045>
- Butt, T. M., Ibrahim, L., Ball, B. V., & Clark, S. J. (1994). Pathogenicity of the Entomogenous Fungi *Metarhizium-Anisopliae* and *Beauveria-Bassiana* against Crucifer Pests and the Honey-Bee. *Biocontrol Science and Technology*, 4(2), 207–214. <https://doi.org/10.1080/09583159409355328>
- Butt, T. M., Wang, C., Shah, F. A., & Hall, R. (2006). Degeneration of entomogenous fungi. *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*, 213–226. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4401-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4401-4_10)
- Carreck, N. L., Butt, T. M., Clark, S. J., Ibrahim, L., Isger, E. A., Pell, J. K., & Williams, I. H. (2007). Honey bees can disseminate a microbial control agent to more than one inflorescence pest of oilseed rape. *Biocontrol Science and Technology*, 17(2), 179–191. <https://doi.org/10.1080/09583150600937485>
- Cure, J. R. (UMNG), Almanza, M. T. (UMNG), Rodríguez, D. (UMNG), Vecil, D. (UMNG), & Aldana, J. (UMNG). (2007). Efecto de *Bombus atratus* sobre la productividad de tomate bajo invernadero en la Sabana de Bogotá, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 25(1).
- Dedej, S., Delaplane, K. S., & Scherm, H. (2004). Effectiveness of honey bees in delivering the biocontrol agent *Bacillus subtilis* to blueberry flowers to suppress mummy berry disease. *Biological Control*, 31(3), 422–427. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.07.010>
- Eilenberg, J., & Hokkanen, H. M. T. (2006). In Degeneration of entomogenous fungi. In *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. (Vol. 2, pp. 213–226). Recuperado de: [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4401-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4401-4_10)
- Eisikowitch, D., Lachance, M.-A., Kevan, P. G., Willis, S., & Collins-Thompson, D. L. (1990). The effect of the natural assemblage of microorganisms and selected strains of the yeast *Metschnikowia reukaufii* in controlling the germination of pollen of the common milkweed *Asclepias syriaca*. *Can. J. Bot. Can. J. Bot., Canadian J(5)*, 1163–1165. Recuperado de: <https://doi.org/doi:10.1139/b90-147>
- Escande, A. R., Laich, F. S., & Pedraza, M. V. (2002). Field testing of honeybee-dispersed *Trichoderma* spp. to manage sunflower head rot (*Sclerotinia sclerotiorum*). *Plant Pathology*, 51(3), 346–351. Recuperado de: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.00723.x>
- FAO, F. and A. O. of U. N. (2016). Pollinators vital to our food supply under threat. Recuperado de: <http://www.fao.org/news/story/en/item/384726/icode/>
- Fernández-O., D., Grabke, A., Li, X., & Schnabel, G. (2015). Independent Emergence of Resistance to Seven Chemical Classes of Fungicides in *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 105(4), 424–432. Recuperado de: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-14-0161-R>
- Gnanamanickam, S. (2002). *Biological Control of Crop Diseases*. (S. Gnanamanickam, Ed.). New York. Recuperado de: [https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=4yyzY17RhrEC&oi=fnd&pg=PR3&dq=Microbiological+Control+Agents+definition+in+agriculture&ots=9AUC6aAEgk&sig=t8oi5YBH18G\\_GDzHrHMkjqVQA9s&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=4yyzY17RhrEC&oi=fnd&pg=PR3&dq=Microbiological+Control+Agents+definition+in+agriculture&ots=9AUC6aAEgk&sig=t8oi5YBH18G_GDzHrHMkjqVQA9s&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Gross, H. R., Hamm, J. J., & Carpenter, J. E. (1994). Design and application of a hive-mounted device that uses honey bees (Hymenoptera: Apidae) to disseminate *Heliothis Nuclear Polyhedrosis Virus*. *Biological Control*, 23(Olofsson 1988), 493–501. Recuperado de: <https://doi.org/10.1093/ee/23.2.492>
- Hokkanen, H. M. T., Menzler-Hokkanen, I., & Lähdenpera, M.-L. (2015). Managing Bees for Delivering Biological Control Agents and Improved Pollination in Berry and Fruit Cultivation. *Sustainable Agriculture Research*, 4(3), p89. Recuperado de: <https://doi.org/10.5539/sar.v4n3p89>
- Johnson, K. B., Stockwell, V. O., Burgett, D. M., Sugar, D., & Loper, J. E. (1993). Dispersal of *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas fluorescens* by Honey Bees from Hives to Apple and Pear Blossoms. *Phytopathology*, 83(5), 478. Recuperado de: <https://doi.org/10.1094/Phyto-83-478>
- Johnson, S. D., & Anderson, B. (2010). Coevolution Between Food-Rewarding Flowers and Their Pollina-

- tors, 32–39. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s12052-009-0192-6>
- Jyoti, J. L., & Brewer, G. J. (1999). Honey bees (Hymenoptera: Apidae) as vectors of *Bacillus thuringiensis* for control of banded sunflower moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 28, 1172–1176.
- Kapongo, J. P., Shipp, L., Kevan, P., & Sutton, J. C. (2008). Co-vectoring of *Beauveria bassiana* and *Clonostachys rosea* by bumble bees (*Bombus impatiens*) for control of insect pests and suppression of grey mould in greenhouse tomato and sweet pepper. *Biological Control*, 46(3), 508–514. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.05.008>
- Karise, R., Dreyersdorff, G., Jahani, M., Veromann, E., Runno-Paurson, E., Kaart, T., ... Mänd, M. (2016) a. Reliability of the entomovector technology using Prestop-Mix and *Bombus terrestris* L. as a fungal disease biocontrol method in open field. *Scientific Reports*, 6(January), 31650. Recuperado de: <https://doi.org/10.1038/srep31650>
- Karise, R., Muljar, R., Smaghe, G., Kaart, T., Kuusik, A., Dreyersdorff, G., Mänd, M. (2016)b. Sublethal effects of kaolin and the biopesticides Prestop-Mix and BotaniGard on metabolic rate, water loss and longevity in bumble bees (*Bombus terrestris*). *Journal of Pest Science*, 89(1), 171–178. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0649-z>
- Kevan, P., Al Mazra'awi, M. S., Sutton, J. C., Tam, L., Boland, G., Thomson, S., & Brewer, G. (2003). Using pollinators to deliver biological control agents.pdf. In R. Downer, J. Mueninghoff, & G. Volgas (Eds.), *Pesticide Formulations and Delivery Systems : Meeting the challenges of Current Crop Protection Industry* (pp. 148–153). West Conshohocken, Pennsylvania: American Society for Testing and Materials International.
- Kevan, P., Eisikowitch, D., & Rathewell, B. (1989). THE ROLE OF NECTAR IN THE GERMINATION OF POLLEN IN ASCLEPIAS SYRIACA L. *Botanical Gazette*, 150(3), 266–270. Recuperado de: <https://doi.org/10.1086/330177>
- Kevan, P., Kapongo, J. P., Al Mazra'awi, M. S., & Shipp, L. (2008). Honey bees, bumble bees and biocontrol: New alliances between old friends. In R. James & T. L. Pitts-Singer (Eds.), *Bee Pollination in Agricultural Ecosystems* (pp. 1–256). New York. Recuperado de: <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195316957.001.0001>
- Klatt, B. K. (2013). Bee pollination of strawberries on different spatial scales – from crop varieties and fields to landscapes, 1–108. Recuperado de: <https://ediss.uni-goettingen.de/handle/11858/00-1735-0000-000E-0B5D-6>
- Klatt, B. K., Burmeister, C., Westphal, C., Tschardtke, T., & von Fragstein, M. (2013). Flower Volatiles, Crop Varieties and Bee Responses. *PLoS ONE*, 8(8). Recuperado de: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072724>
- Kovach, J., Petzoldt, R., & Harman, G. E. (2000). Use of Honey Bees and Bumble Bees to Disseminate *Trichoderma harzianum* 1295-22 to Strawberries for *Botrytis* Control. *Biological Control*, 18(3), 235–242. Recuperado de: <https://doi.org/10.1006/bcon.2000.0839>
- Leonhardt, S. D., & Blüthgen, N. (2012). The same, but different: Pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologie*, 43(4), 449–464. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0112-y>
- Li, G. Q., Huang, H. C., Acharya, S. N., & Erickson, R. S. (2005). Effectiveness of *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma atroviride* in suppression of sclerotinia blossom blight of alfalfa. *Plant Pathology*, 54(2), 204–211. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01119.x>
- Maccagnani, B., Bazzi, C., Biondi, E., Tesoriero, D., & Maini, S. (2006). Potential of *Osmia Cornuta* As a Carrier of Antagonist Bacteria in Biological Control of Fire Blight: a Comparison With *Apis Mellifera*. *Acta Horticulturae*, (704), 379–386. Recuperado de: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.704.59>
- Maccagnani, B., Giacomello, F., Fanti, M., Gobbin, D., Maini, S., & Angeli, G. (2009). *Apis mellifera* and *Osmia cornuta* as carriers for the secondary spread of *Bacillus subtilis* on apple flowers. *BioControl*, 54(1), 123–133. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9163-z>
- Maccagnani, B., Mocioni, M., Ladurner, E., Gullino, M. L., & Maini, S. (2005). Investigation of hive-mounted devices for the dissemination of microbiological

- preparations by *Bombus terrestris*. *Bulletin of Insectology*, 58(1), 3–8.
- Mommaerts, V., & Smaghe, G. (2011). Entomovectoring in plant protection. *Arthropod-Plant Interactions*, 5(2), 81–95. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s11829-011-9123-x>
- Peng, G., Sutton, J. C., & Kevan, P. G. (1992). Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 14(2), 117–129. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/07060669209500888>
- Reeh, K. W. (2012). Commercial Bumble Bees as Vectors of the Microbial Antagonist *Clonostachys rosea* for Management of *Botrytis* Blight in Wild Blueberry (*Vaccinium angustifolium*). Dalhousie University.
- Reeh, K. W., & Cutler, G. C. (2013). Laboratory efficacy and fungicide compatibility of *Clonostachys rosea* against *Botrytis* blight on lowbush blueberry, (SEPTEMBER), 639–642. Recuperado de: <https://doi.org/10.4141/CJPS2012-306>
- Reeh, K. W., Hillier, N. K., & Cutler, G. C. (2014). Potential of bumble bees as bio-vectors of *Clonostachys rosea* for *Botrytis* blight management in lowbush blueberry. *Journal of Pest Science*, 87(3), 543–550. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0565-7>
- Shafir, S., Dag, A., Bilu, A., Abu-Toamy, M., & Elad, Y. (2006). Honey bee dispersal of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39: Effectiveness in suppressing *Botrytis cinerea* on strawberry under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 116(2), 119–128. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9047-y>
- Shimizu, A., Dohzono, I., Nakaji, M., Roff, D. A., Osa-to, S., Yajima, T., Yoshimura, J. (2014). Fine-tuned Bee-Flower Coevolutionary State Hidden within Multiple Pollination Interactions, 1–9. Recuperado de: <https://doi.org/10.1038/srep03988>
- Smaghe, Guy, Mommaerts, Veerle, Hokkanen, H., & Menzler, H. (2012). Multitrophic Interactions: The Entomovector Technology. In Guy, Smaghe & Diaz, Isabel (Eds.), *Arthropod-Plant Interactions: Novel Insights and Approaches for IPM* (I, pp. 127–158). New York London: Springer Science+ Business Media BV.
- Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-3873-7>
- Smaghe, G., De Meyer, L., Meeus, I., & Mommaerts, V. (2013). Safety and Acquisition Potential of *Metarhizium anisopliae* in Entomovectoring With Bumble Bees, *Bombus terrestris*. *Journal of Economic Entomology*, 106(1), 277–282. Recuperado de: <https://doi.org/10.1603/EC12332>
- Smith, B. J., Sampson, B. J., & Walter, M. (2012). International Journal of Fruit Science Efficacy of Bumble Bee Disseminated Biological Control Agents for Control of *Botrytis* Blossom Blight of Rabbiteye Blueberry. *International Journal of Fruit Science*, 12, 156–168. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/15538362.2011.619359>
- Soboksa, G. (2014). Vectoring *Gliocladium catenulatum*, J1446 by Honey bees and Bumblebees for Gray mold Suppression and Pollination Enhancement in Strawberry Production.
- Thompson, H. M., & Hunt, L. V. (1999). Extrapolating from Honeybees to Bumblebees in Pesticide Risk Assessment.
- Tibatá, V. M., Arias, E., Corona, M., Ariza Botero, F., Figueroa-Ramírez, J., & Junca, H. (2017). Determination of the Africanized mitotypes in populations of honey bees (*Apis mellifera* L.) of Colombia. *Journal of Apicultural Research*, 8839(December), 1–9. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1409065>
- Vaknin, Y., Bechar, A., Ronen, B., & Eisikowitch, D. (2000). The role of electrostatic forces in pollination. *Plant Systematic and Evolution*, 222, 133–142.
- Vanneste, J. L. (1996). Honey bees and epiphytic bacteria to control fire blight, a bacterial disease of apple and pear. *Biocontrol News and Information*, 17(4), 67N–78N. Vaissière Recuperado de: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000200010>
- Vanneste, J. L., Cornish, D. A., Voyle, M. D., Haine, H. M., & Goodwin, R. M. (1999). Honey bees to distribute beneficial bacteria to apple and asian pear flowers. In *Acta Horticulturae* (Vol. 489, pp. 615–617).
- Vanneste, J. L., Cornish, D. A., Yu, J., & Voyle, M. D. (2002). P10c: A new biological control agent for control of fire blight which can be sprayed or distributed using honey bees. *Acta Horticulturae*, 590, 231–235.

- Yu, H., & Sutton, J. C. (1997). Effectiveness of bumblebees and honeybees for delivering inoculum of *Gliocladium roseum* to raspberry flowers to control *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 10, 113–122.
- Zhu, H., & Kim, J. J. (2012). Biocontrol Science and Technology Target-oriented dissemination of *Beauveria bassiana* conidia by the predators, *Harmonia axyridis* (Coleoptera : Coccinellidae) and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera : Chrysopidae) for biocontrol of *Myzus persicae*. *Biocontrol Science and Technology*, 22(4), 393–406. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.661>