ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

"Contribución al conocimiento de plagas del cacao: Situación actual y mecanismos de Antixenosis sobre Monalonion dissimulatum Distant".

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y BIOLÓGICO

Presentada por:

Carlos Antonio Riera Ruiz

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2012

AGRADECIMIENTO

A la Fuerza Universal que nos anima, por ponerme en el camino que me ha llevado a este punto, por permitirme dudar y buscar.

A mí querida mamá, la Sra. Marlene Ruiz Magallanes, por su amor infinito, apoyo incondicional y comprensión.

A los buenos profesores que fueron un ejemplo a seguir.

Al CIBE y su directora, PhD. Esther Lilia Peralta, por permitir que realice mí trabajo de grado. A mi guía y director de tesis, Ing. Jorge R. Paredes, por su contribución a mi formación profesional e imprescindible ayuda en la realización de este trabajo. A MC. Patricia Manzano, PhD. Migdalia Miranda, QF. Tulio Orellana e Ing. Iván Choez por su amable apoyo y paciencia.

A la larga lista de personas, amigos y compañeros, que contribuyeron a la realización de este trabajo, muchas gracias por su generosa ayuda.

A la Srta. Ruddy Parrales Rizzo por ser una luz en mi vida.

DEDICATORIA

A mi familia y seres queridos, de manera especial a Marlene Ruiz M. y Jorge Riera C. (+), mis padres.

A mi hermano Jorge Riera R.

A mis queridas tías.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Dr. Kleber Barcia V.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Ing. Jorge Paredes M.
DIRECTOR DE TESIS

M. Sc. Myriam Arias Z.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL ''.

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).

_____

Carlos Antonio Riera Ruiz

RESUMEN

El chinche del cacao *Monalonion dissimulatum* Distant es un Mírido capaz de causar grandes pérdidas del 15 hasta el 80% en cacaoteras. En el Ecuador no existen registros de metodologías probadas para el manejo ecológico de la plaga; se carece actualmente de investigaciones básicas que permitan conocer el comportamiento del chinche, peor aún, el diagnóstico de la situación actual de la plaga en los cultivos; por tal motivo, se plantearon los objetivos de esta investigación. En este trabajo, se muestrearon fincas de cacao orgánico nacional para la geo-referenciación de las plantaciones y ejecución de diagnósticos rurales participativos con la finalidad de conocer la situación actual *de M. dissimulatum* en las plantaciones de caco nacional. Un análisis de cromatografía de capa fina fue ejecutado para observar diferencias en la composición química de las mazorcas de cacao nacional, con daño, CCN51 y mezclas. Se observó que las mazorcas de cacao nacional sin daño de *M. dissimulatum* poseen compuestos con posibles propiedades repelentes e insecticidas en su composición.

INDICE GENERAL

Página
RESUMEN I
INDICE GENERAL II
ABREVIATURAS IV
SIMBOLOGÍA V
ÍNDICE DE FIGURAS VI
ÍNDICE DE TABLAS VII
INTRODUCCIÓN 1
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 2
1.1. El cacao en el Ecuador. 2
1.2. Insectos Plaga del cacao. 8
1.2.1. Míridos del cacao. 8
1.3. Avances en la biología y manejo de *M. dissimulatum*. 11
1.3.1. Investigación en Ecuador y la Región. 12
1.3.2. Investigación en el mundo. 16
1.4. Diagnósticos Rurales Participativos y su importancia. 18
1.5. Mecanismos de resistencia a insectos plaga. 21
1.5.1. Antibiosis. 21
1.5.2. Tolerancia 22
1.5.3. Antixenosis. 23
2. MATERIALES Y MÉTODOS. 27
2.1. Corroboración taxonómica del chinche del cacao. 27
2.2. Muestreo y geo-referenciación de fincas cacaoteras. 29
2.3. Diagnósticos Rurales Participativos (DRP´s). 30
2.3.1. Elaboración y aplicación de encuestas. 30
2.4. Efecto del microclima de los árboles de cacao sobre el desarrollo de *M. dissimulatum*. 32
2.5. Determinación de la situación actual de la plaga. 33
2.6. Obtención y procesamiento de muestras de cacao. 33
Obtención de muestras 33
2.7. Cromatografía de capa fina (TLP) y evaluación de los mecanismos de antixenosis. 35
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 40

3.1. Corroboración taxonómica del chinche del cacao. 40
3.2. Muestreo y Geo-referenciación de fincas. 44
3.3. Situación actual de M. dissimulatum. 46
3.4. Efecto del microclima de las cacaoteras sobre el desarrollo de M. dissimulatum. 50
3.5. Mecanismos de antixenosis. 52
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 55
APÉNDICES 58
BIBLIOGRAFÍA 67

ABREVIATURAS

mm = milímetros

MCCH = Fundación Maquita Cushunchic

CIBE = Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador

CCN-51 = Colección Castro Naranjal

m.s.n.m. = Metros sobre el nivel del mar

BCE = Banco Central del Ecuador

INIA = Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

DRP = Diagnóstico Rural Participativo

SIMBOLOGÍA

% = Porcentaje

°C = Grados centígrados

> = Mayor a

Kg/Ha = Kilogramos por hectárea

ml/Ha = Mililitros por hectárea

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Mapa de sabores del Ecuador……..6

Figura 1.2 Ubicación de algunos míridos en el mundo. Rojo: *M. dissimulatum*, Amarillo: *Sahlbergella sp*., Azul: *Distantiella sp*., Naranja: *Helopeltis sp*…….17

Figura 2.1 A) B) y C) Talleres realizados en instalaciones del centro de acopio "La Pepa de Oro" y D) Toma de encuestas……..31

Figura 2.2 Mazorcas de cacao en distintas etapas fenológicas. A) Grande, B) mediana y C) pequeña…….34

Figura 2.3 Formato de tabla de Muestras Secas de Cacao……..34

Figura 2.4 Correcta colocación de placas……38

Figura 3.1 Huevos de *M. dissimulatum* y otros míridos. A) Procesos coriónicos de *M. dissimulatum*. B) procesos coriónicos de Helopeltis sp. C) Forma típicas de huevo de míridae. Barra = 1mm……..41

Figura 3.2 Variación morfológica de la hembra de *M. dissimulatum*. Se observa la diferencia en la coloración de la parte posterior ensanchada del pronoto señalada con la flecha.....43

Figura 3.3 A) *M. dissimulatum* macho, se observa la coloración negra del corium y membrana de las alas. B) y C) especimenes de *M. dissimulatum* hembras depositados en los museos ESSING de California y el nacional del Perú respectivamente……...43

Figura 3.4 Ubicación Geográfica de fincas muestreadas……..44

Figura 3.5 Localidades dentro del área muestreada……..45

Figura 3.6 Fincas con presencia de *M. dissimulatum*…….46

Figura 3.7 Tendencia de los datos en las localidades monitoreadas…….47

Figura 3.8 Análisis de correspondencias durante los meses de A) Enero, B) Febrero, C) Marzo, D) Abril.....48

Figura 3.9 Análisis de correspondencia de los meses de E) Mayo, F) Junio, G) Julio, H) Agosto, I) Septiembre, J) Octubre.....49

Figura 3.10 Matriz de correlaciones entre variables climáticas y presencia del chinche.....51

Figura 3.11 Diagrama de componentes principales de valores Rf……54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Correspondencia 52

INTRODUCCIÓN

Los artrópodos conocidos como chinches verdaderos son invertebrados pertenecientes a la clase Insecta, orden Hemíptera. El tipo Geocorizae (chinches terrestres o de plantas) contienen a la familia Míridae a la cual pertenece el género *Monalonion* [1].

El chinche del cacao *Monalonion dissimulatum* Distant es un Mírido capaz de causar grandes pérdidas del 15 hasta el 80% en cacaoteras [2, 3, 4, 5]. Con su aparato bucal chupador-picador lesiona las mazorcas dejando manchas necróticas de 4 mm de diámetro [5, 6]

En el 2010 la institución MCCH acudió al Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) en busca de una solución para combatir la presencia de esta plaga en fincas cacaoteras del cantón Vinces en la provincia de Los Ríos. En el Ecuador no existe información detallada sobre la incidencia de este insecto en fincas cacaoteras ni sus preferencias sobre la variedad nacional; en el resto del mundo los datos sobre este mírido son escasos. Debido a esta problemática surgieron los objetivos principales de esta tesis: determinar la situación actual de la plaga y los mecanismos involucrados en la antixenosis en contra de *M. dissimulatum* como base para la selección de variedades y microclimas idóneos para la producción de cacao nacional.

CAPÍTULO 1

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. El cacao en el Ecuador.

El cacao, *Theobroma cacao* L. (Malvales: Malvácea) siempre fue un producto de gran importancia en Ecuador y América, incluso desde la época pre-colonial. Las antiguas civilizaciones de Mesoamérica especialmente las ubicadas en la región costera ya tenían recetas en las que utilizaban la fruta, como en la bebida amarga llamada “xocoaltl”, que luego derivó en la palabra “chocolate” [7] [8].

Principales Cultivares del país

El mercado mundial reconoce dos grandes categorías de cacao, el cacao fino y de aroma, asociado con árboles del tipo Criollo y Trinitario, y el cacao ordinario asociado con árboles del tipo Forastero [9].

Generalmente para hacer este tipo de clasificaciones en campo se usan marcadores fenotípicos, como la pigmentación de los filamentos del estamen [10, 11], que son interesantes para una clasificación gruesa pero no son descriptores confiables para clasificar accesiones de cacao Nacional, según Lerceteau y Quiroz (1997) [12], quienes además sugieren al cacao Nacional fuera de los tres grupos tradicionales, Criollo, Trinitario y Forastero, aunque genéticamente más cercanos a este último.

La diferenciación del cacao Nacional en su clasificación está respaldada por la investigación de Loor et al (2009) [13] quienes con técnicas moleculares determinaron, de un conjunto de 322 muestras de cacao colectadas a lo largo de la costa del Pacifico de Ecuador, que existe un grupo con altos niveles de homocigosis los cuales se diferencian de Forastero y Criollo.

Otros estudios sobre el tema han logrado determinar que el complejo de variedades Nacionales se diferencia a las de Ghana (Tipo Forastero) en su composición química, específicamente en sus compuestos volátiles los cuales determinan sus cualidades organolépticas. “La dimensión aromática resultó estar dotada de una gran capacidad para discriminar entre muestras de cacao nacional y muestras de Ghana” [14].

Colección Castro Naranjal (CCN-51)

Este clon fue desarrollado en Ecuador de manera independiente por Homero U. Castro en Naranjal en 1970, de allí su nombre [15], posee cierto grado de inmunidad a la escoba de bruja y otras enfermedades además presenta mayor productividad y precocidad [16].

El clon CCN-51 a pesar de no ser cacao fino y de aroma por sus condiciones de calidad, es solicitado por su alto porcentaje de grasa (54.6%) para la elaboración de manteca de cacao. En Colombia existe una reglamentación para cultivar este clon en lotes independientes, evitando mezclarlo con otros tipos de clones [17].

Complejo de Variedades Nacionales

Las variedades nacionales son consideradas de las mejores del mundo por su sabor fino y de aroma. Tienen matices frutales y florales (e.g. jazmín) bien balanceados [18] característicos del sabor *arriba* por tal motivo son codiciados en la industria de chocolates finos. A modo de ejemplo, Bélgica en su Codex alimentario dice que para que un chocolate sea considerado 'Premium' debe tener al menos 12% de sabor arriba [19].

Condiciones Geográficas

El cacao nacional *arriba* se desarrolla dentro del territorio ecuatoriano desde los 0 a los 1200 m.s.n.m. Las precipitaciones oscilan entre 2000 hasta 4000 mm, con ligeras variantes, que modifican el clima en algunos lugares costaneros del Ecuador.

En algunas zonas existen pendientes no mayores al 30%, en las cuales al llegar a los 400 m.s.n.m. se vuelven planas con interrupción de quebradas y ríos hasta llegar al mar.

Las temperaturas medias en las zonas de cultivo oscilan entre 22 y 24° C, estas dependerán de la altitud que en casos extremos no baja de los 15 ni sube de los 35° C.

Se desarrolla en suelos ígneos de origen volcánico ubicados en las cercanías de la cordillera y a medida que los cultivos se acercan al mar los suelos se vuelven más aluviales y ricos en materia orgánica [20, 21].

Distribución del cacao

El cacao en Ecuador se expandió principalmente en 4 zonas desde épocas la época de La Colonia:

1) La zona denominada como “Arriba” que comprende la zona de la cuenca baja del río Guayas, es decir las actuales provincias del Guayas y Los Ríos.
2) La zona húmeda de Manabí, con el llamado cacao “Bahía”.
3) La zona de Naranjal, que comprende la parte sur del Ecuador con una pequeña parte de la provincia del Guayas y la provincia de El Oro.
4) La zona de Esmeraldas, con un cacao acriollado denominado “Esmeraldas”.

Prácticamente el cacao “Arriba” se ha desarrollado en la zona húmeda de la costa del Pacífico, pero debido al desarrollo con el tiempo de enfermedades de gran impacto económico como escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y monilia (*M. roreri*) su cultivo se ha extendido a las zonas de las estribaciones de la cordillera occidental, así como también a la zona norte de la provincia de Los Ríos y la zona amazónica del país [20, 21].

En la figura 1.1 se puede observar gráficamente la distribución de los cultivares de cacao en Ecuador, claramente se aprecia que la variedad Nacional, ilustrada con colores rojo, negro y verde, abarca desde las

estribaciones de la cordillera de los Andes hasta la costa del Pacifico así como también parte de la zona central y norte de la Amazonía [20, 22].

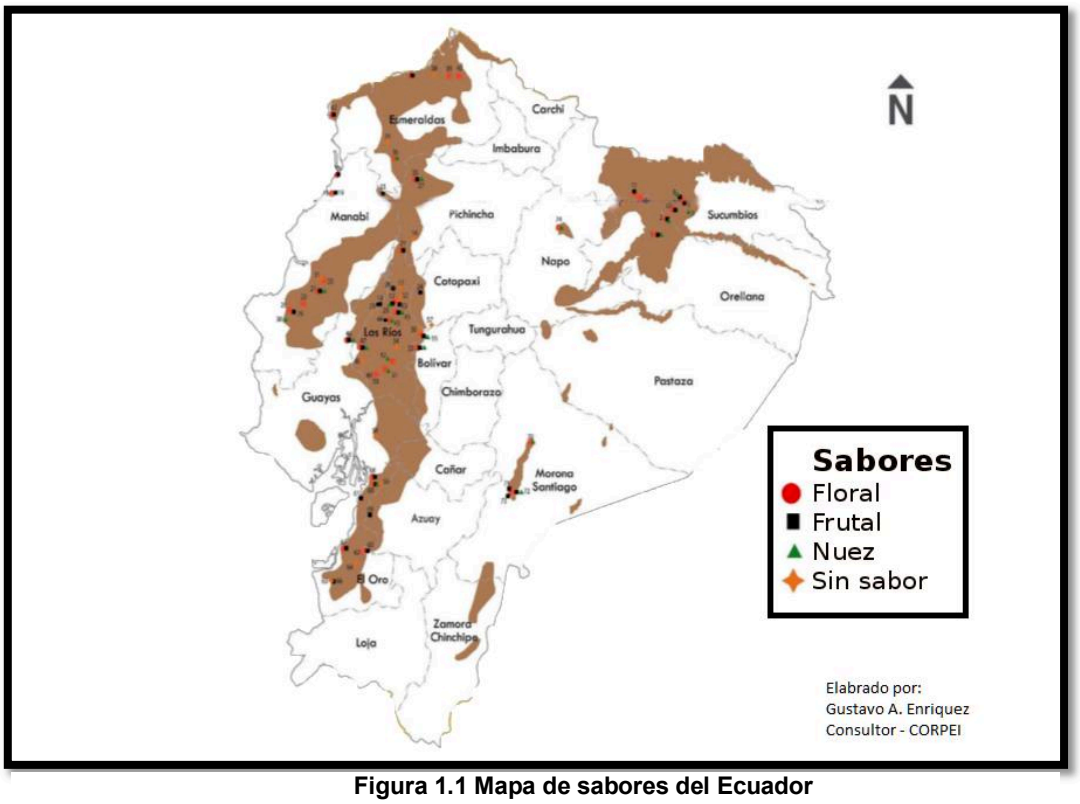


Figura 1.1 Mapa de sabores del Ecuador

El cacao en la economía

Las exportaciones del cultivo y sus derivados han registrado una Tasa de Crecimiento Anual de 25% desde el 2006 [8]. Según datos del BCE [23] en el primer trimestre del año el cacao fue el tercer producto tradicional no petrolero que más se exportó (5.4%) después del camarón (12.0%) y banano y plátano juntos (22.4%) con una superficie de 439618 hectáreas sembradas en edad productiva en el país [24].

La producción nacional representa el 31% de la oferta de cacao de América latina y el 4.7 % en todo el mundo, lo que ubica al país como segundo

mayor exportador de la zona y dentro de los 10 primeros del mundo [25]. El 94% de la producción ecuatoriana corresponde a la variedad nacional y corresponde al 43% del cacao fino y de aroma producido a nivel mundial [26].

Los principales mercados destino del cacao ecuatoriano son Estados Unidos de América y Bélgica. Los países africanos en conjunto son los mayores productores mundiales, su participación mundial promedia el 70%, y se mantendrá durante los próximos años. Países como Costa de Marfil, donde los costos de producción son más bajos debido al reducido costo de la mano de obra y donde se produce 12 veces más que en Ecuador, tienen cierta ventaja competitiva en los aspectos de volumen y costos de producción.

En estas condiciones Ecuador no sería competitivo en el mercado de cacao ordinario por lo que su estrategia debe enfocarse en el mercado del cacao fino de aroma, donde Ecuador ha recibido premios en los precios, en el que es reconocido por su sabor *arriba* y es uno de los principales productores y exportadores; además enfocar investigación en encontrar los elementos resistentes a las enfermedades que lo atacan, para solucionar así su baja productividad y continuar como líder en este nicho exclusivo [16, 27].

1.2. Insectos Plaga del cacao.

1.2.1. Míridos del cacao.

Los artrópodos conocidos como chinches verdaderos son invertebrados pertenecientes a la clase Insecta, orden Hemíptera. Los hemípteros se dividen en tres tipos que son Hydrocorizae (chinches acuáticos), Amphibicorizae (chinches semiacuáticos) y Geocorizae (chinches terrestres o de plantas). Estos últimos contienen a la familia Míridae a la cual pertenece el género Monalonion y otros chinches del cacao [28].

Daños en cacao debido al ataque de míridos

La disminución de la tasa de crecimiento en producción de cacao prevista durante el próximo decenio se debería al brote de enfermedades como el virus del edema de los brotes y podredumbre negra de las mazorcas del cacao, y a plagas como los míridos [27]. Las pérdidas en producción estimadas en cacao a causa de estos insectos son del 30-40% [29]

Los míridos se alimentan de todas las partes de la planta excepto de hojas y de raíces. Los daños pueden causarlos en sus 5 estadios ninfales y en su etapa adulta, como consecuencia de los piquetes hechos en partes vegetativas o frutos al alimentarse; la saliva inyectada a la herida causa lisis de los tejidos, probablemente debido a la acción de esterasas [30, 31].

En mazorcas completamente desarrolladas, los piquetes causados por los míridos no impiden su maduración. Sin embargo, en mazorcas pequeñas o cherelles un alto número de piquetes puede causar malformaciones o impedir el desarrollo del fruto [29].

Cerca de 40 diferentes especies han sido observadas en cacao y los más comunes en Ghana y otros países son *Sahlbergella singularis* Haglund, *Distantiella theobroma* Distant, *Helopeltis spp.* (el mosquito del cacao) y *Bryocoropsis laticollis* Schumacher [32]. Otras especies del género Monalonion, como *M. annulipes* Signoret se observan en Costa Rica [33] y *M. dissimulatum* Distant en Ecuador (MCCH 2010).

***Sahlbergella singularis* Haglund**

Conocido como el chinche café del cacao, este mírido es capaz de causar en menos de tres años la pérdida del 75% de un cacaotal y es el mayor causante de pérdidas en Nigeria [34]. El daño causado por este insecto al alimentarse puede ser generalizado en varias partes de la fisionomía de árbol como lesiones en los frutos, cancros en los troncos y muerte regresiva de las ramas; el control de esta plaga se lo realiza con agroquímicos a base de Endosulfan al 25% [35] aunque también se ha experimentado con extractos acuosos de Neen al 20% que arrojaron resultados satisfactorios con alrededor de 80% de mortalidad de cápsidos [36, 37].

***Distantiella theobroma* Distant**

D. theobromae se alimenta de ramitas verdes y mazorcas jóvenes de cacao dejando lesiones necróticas por la lisis de células sub-epidérmicas. El manejo integral de plagas consiste en manejo cultural, como la instalación de sombreado temporal, remoción de chupones y el uso racional de pesticidas. Otras investigaciones, en el área de control genético, para la obtención de clones resistentes al ataque de los míridos dan buenos resultados. También se están estudiando y analizando compuestos responsables de la atracción de los míridos a algunos clones. Pérdidas causadas por este insecto se estiman hasta un 30% [38].

***Monalonion annulipes* Signoret**

Esta especie de mírido en particular prolifera en zonas con poca sombra y se alimenta de mazorcas en proceso de maduración y brotes terminales tiernos de cacao. Necesita de 90% de humedad para la incubación de sus huevos que demora alrededor de 18 días. Su etapa ninfal se completa aproximadamente en 17 días y como adulto no sobrevive demasiado tiempo después de copular. La alta disponibilidad de alimento así como el alto rango de temperatura ambiente favorecen la proliferación del mírido. Altas poblaciones de *M. annulipes* están relacionadas con la muerte descendente del

cacao debida a los daños en brotes terminales que el chinche causa [33, 39, 40].

Helopeltis spp.

El género Helopeltis está ampliamente distribuido e incluye muchas especies consideradas altamente nocivas para algunos cultivos. *H. clavifaver* Walker ha sido encontrado en Asia y Australia [41]. *H. theobromae* Miller y *H. theivora* Waterhouse son también grandes causantes de pérdidas en la Malaysia peninsular. Se alimentan de mazorcas desde su etapa floral hasta la madurez y de brotes terminales, llegan a causar pérdidas de hasta el 85% sin control oportuno. Se ha determinado que *Beauveria bassiana* es un controlador efectivo para estas plagas [42, 43].

1.3. Avances en la biología y manejo de *M. dissimulatum*.

Clase: Insecta

Orden: Hemíptera

Familia: Míridae

subfamilia: Bryocorinae

tribu: Dicyphini

subtribu: Monaloniina

Género: Monalonion

Especie: *M. dissimulatum* (Distant)

1.3.1. Investigación en Ecuador y la Región.

Generalidades

El chinche del cacao *Monalonion dissimulatum* Distant (HEMÍPTERA: MÍRIDAE) es un insecto picador chupador que se alimenta de la savia de los frutos y es capaz de causar daños de hasta el 80% en las plantaciones [2, 3, 4, 5].

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA) de Venezuela describe a *M. dissimulatum* sus ninfas como ápteras de color amarillo naranja brillante con patas largas y de color negro. Cuando llega a su etapa adulta mide de 10 a 12 mm de largo con cabeza de color negras con antenas y patas largas. Los machos se diferencian de las hembras por el color de sus hemiélitros, en los primeros son negros en toda su superficie mientras que en las últimas presentan líneas negras transversales [44].

Etapas Fisiológicas

Huevo

Son alargados y algo curvos, de color blanco; debido a que las hembra los deposita dentro del fruto cuentan con dos apéndices filiformes o aerófilos que les permiten respirar; a medida que el embrión comienza a desarrollarse se tornan anaranjados [5].

Ninfa

Son de color anaranjado claro, con algunos segmentos de la cabeza, el abdomen, las patas y las antenas de color rojo. Pasa por 5 instares o estadios ninfales, y su tamaño varía entre 1.5 mm en el primer estadio y 12mm en el quinto estadio [25]. La duración promedio de cada estado ninfal es de 4 días [45].

Adulto

Cabeza de color negro, igual que las antenas excepto el último artejo que es amarillo, pronoto negro excepto la unión con el cuello que es amarilla, hemélitros amarillo anaranjado con manchas negras transversales, rostrum amarillo claro casi negro en el extremo. Presenta una coloración anaranjada en el abdomen y alas, la cabeza de color negro al igual que la parte final del abdomen, posee dos franjas negras en la mitad y al final de las alas [5]. Las hembras y machos difieren en su morfología [25]; las hembras miden de 11 a 12 mm de largo, la cabeza es negra brillante, el rostrum amarillo anaranjado con la parte terminal negra y mancha roja. Los machos miden 10 mm, la cabeza es negra, rostrum amarillo anaranjado, los hemélitros son totalmente negros y el abdomen es rojizo.

Daños causados por *M. dissimulatum* en cacao

En condiciones de alta infestación los piquetes en las mazorcas se unen entre sí, tomando una apariencia petrificada y seca, cubierta de micelio y esporas de hongos; durante el proceso de alimentación *Monalonion* inyecta toxinas en los tejidos acelerando su descomposición. En mazorcas pequeñas de 10 a 12 semanas que son atacados pronto se tornan negros, se endurecen y mueren. Las mazorcas de mayor tamaño sobreviven al ataque pero algunas con deformaciones y menor tamaño de almendras [31].

En Alto Beni, Bolivia *M. dissimulatum* es una de las principales plagas en cultivos de cacao, aunque no se ha evaluado objetivamente, técnicos locales y productores piensan que el chinche reduce considerablemente los rendimientos [46], en la misma investigación se determinó que habían de 9 a 22 chinches por árbol y se observó que en zonas altas había mayor cantidad de chinches bajo sombra que al sol, mientras que en zonas bajas la cantidad de chinches era mayor a pleno sol. El daño del chinche en la zona fue del 6 al 15% aunque estudios anteriores en Costa Rica señalan ataques mayores del 18-38% que causaron muerte regresiva de los frutos. La mayoría de piquetes ocurrieron en mazorcas de medianas a grandes (> a 10cm de largo).

Además de ser una plaga en cacao se han reportado ataques en musáceas. En banano inyecta toxinas al fruto al alimentarse lo cual forma manchas necróticas que limitan su comercialización [47].

Control

El control sugerido es la realización de podas para la aireación y el control de sombra y humedad excesiva ya que se ha demostrado que la luz incide en la presencia de ciertos míridos del cacao.

El control de malezas de insectos hospederos ayudan a prevenir la presencia oculta del chinche en las plantaciones y la aplicación de medidas de vigilancia continua permiten la detección de focos de ataque. Se recomienda, cuando es posible, la eliminación manual de ninfas y adultos.

Se han reconocido varios agentes benéficos *Prophanurus bodkini*, parasito de huevos; *Dolichoderus spp.*, depredador de ninfas y adultos, al igual que los hemípteros *Hezza sp.* y *Podissus spp.* [44, 46].

La aplicación de insecticidas solo será necesaria cuando la incidencia sea alta, productos a base de Carbaril en dosis de 16 Kg/Ha, Diazinon en dosis de 400 ml/Ha y Endosulfan en dosis de 800 ml/Ha son utilizados en Brasil [48].

Investigaciones en Colombia demostraron que *M. dissimulatum* es altamente susceptible al efecto de aplicaciones del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en cualquier etapa de su desarrollo. La mortalidad empieza entre los 4 y 6 días después de la aplicación. Las dosis recomendadas oscilan entre 2.5 x 10^8 y 7.5 x 10^8 conidias por mililitro de suspensión [45].

Un punto importante es conocer si la variedad nacional de Cacao Fino de Aroma, producto muy deseado por sus cualidades organolépticas en el mercado internacional, presenta cualidades que la hacen más propensa al ataque del chinche. En el mundo existe poca información sobre la biología y control del esta especie y en el Ecuador prácticamente no existen estudios [49].

1.3.2. Investigación en el mundo.

Los míridos son plagas importantes en cacaotales de todo el mundo; la distribución de las especies en el mundo es muy variada y no necesariamente varias especies de míridos habitan en todas las zonas cacaoteras, en muchos casos cada especie está presente en zonas específicas.

Así, como se parecía en la figura 1.2, especies del género *Heliopeltis* son importantes en Asia mientras que *Pseudoniella* y *Platygomiriodes* lo son en Nueva Guinea y Borneo respectivamente.

Monalonion es una especie importante hasta el momento solo en Centroamérica y Sudamérica.

Por este motivo las investigaciones sobre la biología y control de esta especie fuera de Centroamérica y el cono sur son relativamente escasas.

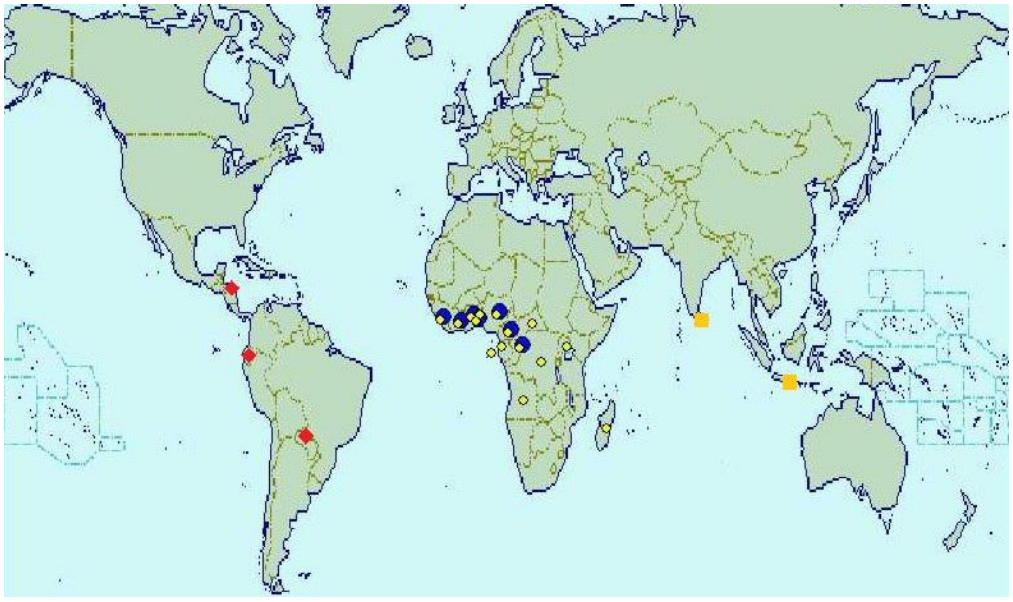


Figura 1.2 Ubicación de algunos míridos en el mundo. Rojo: M. dissimulatum, Amarillo: Sahlbergella sp., Azul: Distantiella sp., Naranja: Helopeltis sp..

Sin embargo fragmentos de trabajos generales sobre míridos de cacao, materiales de difusión de tecnología e información sobre cacao y temas similares, no específicamente sobre *Monalonion*, lo describen vagamente incluyendo algunos datos de interés e incluso muestran material fotográfico.

Monalonion, al igual que, *Helopeltis* tienen patas y antenas largas en relación a su cuerpo a diferencia de las demás especies de míridos que las tienen más fornidas.

El desarrollo de sus cinco estados inmaduros es afectado por factores climáticos, como temperatura y humedad, también por la calidad del alimento disponible. La vida útil del adulto también está condicionada por la disponibilidad de alimentos, mazorcas y brotes tiernos. La luz es un factor que también tiene un papel decisivo en la regulación dentro del ecosistema de los míridos. Generalmente los brotes se dan en los periodos lluviosos, sean largos o cortos estos influyen positivamente en su desarrollo. El tiempo que lleva el ciclo de vida de los míridos es muy variable y depende mucho de las condiciones ambientales en que se encuentran [50].

1.4. Diagnósticos Rurales Participativos y su importancia.

Para fomentar el desarrollo no es suficiente el enfocarse en la extensión agrícola, es también necesario que las comunidades se vean envueltas en las decisiones que afectan los aspectos del desarrollo [47].

En las comunidades rurales, la participación es vital como una manera de identificar e implementar actividades prioritarias para el desarrollo. Para ese efecto las comunidades analizan su situación actual (limitaciones como recursos), identifican sus problemas prioritarios con el fin de que la entidad de desarrollo, en este caso MCCH, provea la asistencia necesaria.

No debe olvidarse que el diagnostico se lleva en conjunto con los pobladores. El DRP es la base para tomar acciones ya que luego del

diagnóstico, y de acuerdo a sus resultados, se sugiere diseñar el plan de acción.

Sin embargo, los resultados del diagnóstico deben ser considerados como orientadores iniciales, no como resultados definitivos. Trabajar con grupos humanos se presta a condiciones cambiantes, esto hace que el DRP sirva para realizar una propuesta inicial que puede ser modificada con el tiempo adaptándose a la realidad.

Con este método, se integran los pobladores y el personal técnico externo a la comunidad, para analizar los principales problemas sociales y económicos, identificar los potenciales conflictos y las condiciones necesarias para desarrollar el proceso de mejora de las condiciones de vida [50].

Importancia

La clave del proceso de Diagnóstico Participativo es el esfuerzo por generar en los actores sociales la capacidad de adquirir control sobre su propia situación, el llamado “empowerment” [51].

Es importante además porque un DRP, a diferencia de otros tipos de diagnóstico, como el *Diagnostico Rural Rápido* y la *Investigación de Sistemas Agrarios*, busca:

- Evitar poner las ciencias naturales sobre las sociales y minimiza los sesgos o visión parcial de la realidad inducida

por un determinado motivo, que encubre explícita o implícitamente, el límite de la interpretación del fenómeno o proceso en observación.

- Minimiza costos ya que busca información fiable en el menor tiempo posible; por lo cual evita los diagnósticos exhaustivos y sondeos cortos, más bien un término medio entre ambos.
- Evita la negación del conocimiento campesino y utiliza un lenguaje sencillo y práctico, logrando una comunicación horizontal entre él y el agente externo.

Obtención de datos

Para los proyectos de acción en el medio rural y para fijar prioridades de investigación en el campo, es necesario disponer previamente de datos fiables del sitio de interés [51].

Una herramienta para la obtención de datos son las encuestas o entrevistas, muy utilizadas por instituciones como la Fundación Moisés Bertoni en sus Diagnósticos Rurales Participativos [52] y la Procuraduría Agraria de México [51]. Es común, como se mencionó, que exista mucha variabilidad y se encuentren incoherencias. Justamente uno de los usos de las encuestas es conocer la opinión del público sobre uno o varios temas, la cual no siempre es exactamente lo que está ocurriendo [53].

1.5. Mecanismos de resistencia a insectos plaga.

Painter en su clásico libro “Insect Resistance in Crop Plants” de 1951 propuso que la Resistencia, observada en campo, puede ser explicada por tres mecanismos fundamentales, los llamó a) No preferencia, b) antibiosis y c) tolerancia [54]. Painter y posteriormente otros autores han subrayado el hecho de que estos mecanismos se interrelacionan frecuentemente aunque también pueden operar independientemente.

El único cambio a la clasificación de Painter fue en el término de ‘No preferencia’ por el de Antixenosis que tiene una mejor aceptación[55].

Los estudios se han concentrado en evaluaciones de daño en campo y el progreso ha sido por mucho limitado. Hasta hace 4 años ningún trabajo había elucidado los mecanismos de resistencia en cacao. Investigaciones en África trabajan con la resistencia del cacao a *Sahlbergella singularis* con un estudio diseñado para evaluar genotipos selectos de cacao para resistencia a los míridos, a través de antixenosis, antibiosis y tolerancia, midiendo el daño en campo. El uso de variedades resistentes al ataque de míridos es una de las alternativas al control químico [56].

1.5.1. Antibiosis.

Según algunas definiciones la antibiosis es la asociación de dos o más organismos en detrimento de una u otras. Panda y Khush (1995) [57] la definen como una cualidad hereditaria que posee una planta y que afecta negativamente la biología de un insecto. Trabajos

anteriores en algunos cultivos atribuyen a la antibiosis la presencia de toxinas e inhibidores de crecimiento en una planta [58].

Como se ha dicho, generalmente los mecanismos de resistencia aparecen asociados y no individualmente; cuando la antibiosis es el componente de resistencia predominante se ha reportado la aparición de nuevos biotipos de especies [57]. Los efectos de las plantas que poseen diferentes categorías de resistencia son considerados más benéficos que los de las que poseen categorías individuales de resistencia ya que pueden aumentar la presión en la selección [58].

Por medio de diferentes estudios se ha indicado que la resistencia de las plantas y el control biológico son compatibles entre sí [59, 60], aunque la antibiosis ha causado un impacto negativo en algunas especies de depredadores de míridos y parasitoides [59, 61].

1.5.2. Tolerancia.

Las estrategias defensivas de las plantas juegan un rol importante en la supervivencia de las pantas, más aún porque están expuestas a diferentes especies de insectos que se alimentan de ellas [62].

Como defensa las plantas han evolucionado varios mecanismos, y aunque relativamente menos estudiado como estrategia defensiva, la tolerancia juega un rol importante en la defensa de las plantas [62, 63].

La tolerancia es la característica genética de una planta para soportar altas poblaciones de una peste y mitigar los efectos negativos antes de que el daño ocurra comparada con el daño que ocurriría en un cultivar susceptible [57, 64].

Las plantas usan muchos mecanismos para recuperarse del daño que sufren. Algunas de estas características son el aumento de la actividad fotosintética, crecimiento compensatorio, cambios fenológicos, utilización de reservas, redistribuyendo recursos, incrementando la absorción de nutrientes y el cambio de arquitectura sirven para este fin [63-65].

Para evaluar la tolerancia suele utilizarse la observación de daño reciente y daño acumulado como en la investigación en resistencia a *Sahlbergella singularis* en Ghana. Se clasifican los daños según su intensidad para determinar la tolerancia de los cultivares [56].

1.5.3. Antixenosis.

La antixenosis viene del griego *anti* que significa 'frente a' o 'contra', *xeno* que significa 'extraño' o 'forastero' y *sis* que significa 'proceso' [66]. Se deduce así su significado como el proceso en contra de agentes extraños.

La antixenosis es uno de los mecanismos de resistencia que las pantas presentan ante el ataque de plagas. Esta estrategia incorpora todas las características que hacen que la planta no sea objeto de

ataque del insecto. Algunos mecanismos de antixenosis incluyen aspectos morfológicos o presencia de compuestos repelentes o tóxicos [67].

Así, como la tolerancia y la antibiosis, la antixenosis no es una característica del insecto sino de la planta, por lo cual no es una situación de selección y no puede ser asociado a la no preferencia, ergo tampoco abarca la no aceptación. Como sus raíces etimológicas lo sugieren lo que verdaderamente pasa no es que el insecto no escoge a la planta sino que la planta trata de alejarlo mediante varios mecanismos adquiridos por evolución.

Algunos de estos mecanismos son aumento de la serosidad, pubescencia o sabor de las hojas, exudación de compuestos defensivos como resinas o gomas.

Un ejemplo de mecanismos asociados con el color y que hace distinción entre antixenosis y antibiosis es el de la col. Existen coles en las que los diferentes colores parecen disuadir la colonización u oviposición de áfidos y mariposas blancas; el éxito en la cría de ambos, solo en coles rojas, demostró que no presentaban antibiosis.

El incremento de la densidad de tricomas en la superficie de las hojas disuade a muchos insectos pequeños como áfidos y moscas blancas. Otros cultivos como la papa pueden tener pelos glandulares

que al ser mordidos por insectos exudan un polifenol de fraguado rápido que pega sus aparatos bucales.

Los metabolitos secundarios como alcaloides y taninos son fundamentales en los mecanismos de antixenosis; un ejemplo es el compuesto fenólico DIMBOA que es antixenotico al taladro del maíz *Ostrina nubilaris*.

Un ejemplo de antixenosis morfológica es el de las brácteas frego en el algodón, las cuales son estrechas y algo enrolladas por lo que impiden que la polilla *Helicoverpa* se pose sobre ellas y oviposite [68].

En cacao existen estudios recientes sobre antixenosis. El bajo contenido de agua en los tallos de algunos cultivares del Amazonas es un factor que hace a estos no atractivos para los míridos [50].

La preferencia del mírido *Sahlbergella singularis* por diferentes variedades se evalúa mediante pruebas en laboratorio. Se determina mediante tests de selección en los que se coloca al mírido en platos Petri donde se colocan varios brotes tiernos de diferentes variedades para luego evaluar, según el número de piquetes, el nivel de antixenosis [56].

Aunque se ha logrado determinar la presencia de antixenosis en algunos cultivares de cacao, no se han investigado cuales son los mecanismos involucrados. Se han sugerido algunos como el color

de los brotes [29], su contenido de agua y la presencia de compuestos fenólicos.

CAPITULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Corroboración taxonómica del chinche del cacao.

Para la confirmación de la identidad taxonómica de *M. dissimulatum* se capturaron ninfas de diferentes estadios en árboles de cacao infestados en el cantón Vinces provincia de Los Ríos. Se transportaron las ninfas en viales de vidrio cubiertos de malla mesh con alimento y hojas verdes con el fin de evitar la deshidratación de los inmaduros. Durante el traslado, se procuró la inmovilidad del alimento provisto para evitar la pérdida de los especímenes.

Las ninfas fueron confinadas en cajas de polietileno y/o vidrio de 30x15x15 cm para la continuidad del ciclo biológico. Se colocaron ramas y frutos jóvenes de cacao como fuente alimenticia y se remplazó el material cada dos días con el fin de evitar contaminación o cuando el número de piquetes en las mazorcas cubría la totalidad de las mismas; las ramas de cacao provistas fueron hidratadas con torundas de algodón humedecidas. Durante el experimento, las ninfas fueron manipuladas del sitio de alimentación, mazorcas o ramas con pinceles pelo de Martha número 001. Los individuos eran depositados en frascos transparentes de vidrio de 250ml. Una vez en el laboratorio se retiraban las ninfas de los frascos para su ubicación en bandejas plásticas. Dependiendo de su tamaño se

colocaban una o dos mazorcas por bandeja y se la cambiaba frecuentemente, cuando los piquetes cubrían casi la totalidad de esta, aproximadamente cada dos días.

Las ninfas que no sobrevivían eran preservadas en frascos de vidrio con alcohol al 70% junto con sus mudas siempre y cuando se hayan encontrado en buen estado. Las ninfas que lograban llegar a su etapa adulta eran preservadas de la misma manera.

Corroboración Taxonómica

Para la corroboración taxonómica se utilizó un estereoscopio marca ®BOECO modelo BOE3500 y uno ®ZEIZZ Lumar V12 acoplado a una AxioCam MRc 5. Para la manipulación de los especímenes se usaron pinzas, agujas de disección y alcohol al 70%.

Se usaron claves taxonómicas sugeridas por el entomólogo W.L. Distant, quien describió por primera vez a *Monalonion dissimulatum* en 1983 y otras especies de Hemípteros en su publicación *Insecta. Rhynchota. Hemiptera-Heteroptera Vol. 1*. También se buscaron diferencias morfológicas entre individuos de la especie, y entre machos y hembras.

Las ilustraciones científicas fueron dibujadas por Deybid Pluauna vez la corroboración estuvo realizada. Se utilizó el software Adobe Ilustrator para la elaboración de los dibujos.

2.2. Muestreo y geo-referenciación de fincas cacaoteras.

El muestreo de fincas se llevó a cabo durante el primer semestre del año 2012 en el cantón Vinces, provincia de Los Ríos. Las fincas seleccionadas fueron las ubicadas en zonas donde hubo presencia del chinche en años anteriores y se las identifico con ayuda del personal de la fundación MCCH.

Los datos fueron obtenidos con un GPS marca ®Garmin modelo 60CSX del departamento de Técnicas Agrícolas del CIBE con un error máximo de +-5 m. El traspaso de datos del dispositivo al computador se realizó con el software que provee el fabricante, MapSource 6.13.7.

Para el procesamiento de datos se utilizó el software libre Quantum Gis Lisboa 1.8. Los puntos tomados para la geo-referenciación corresponden al perímetro de cada finca y la ubicación geográfica de cada árbol muestreado. Se crearon dos capas vectoriales de formato shp. Una de polígonos, que ilustra al área que delimita cada finca, y otra de puntos, que representa la ubicación geográfica de cada árbol.

Para enriquecer la tabla de atributos de los mapas se creó un archivo delimitado por comas CSV y se usó el software libre OpenOffice por su sencillez en la creación y edición de este tipo de formato. Dicho archivo contenía datos relevantes de cada observación como nombre de las fincas, propietario entre otros parámetros que se detallan más adelante.

2.3. Diagnósticos Rurales Participativos (DRP´s).

El objetivo de esta tesis como tal no es llevar a cabo un diagnostico rural participativo; sin embargo para el proyecto del que derivo este trabajo si lo es. Por lo tanto como herramienta para obtención de datos nos servimos de entrevistas o encuestas que se realizaron durante las visitas a las fincas en dicho proyecto.

2.3.1. Elaboración y aplicación de encuestas.

El cuestionario se dividió en tres grupos importantes de preguntas. Situación actual del cultivo, Manejo agronómico del Cultivo y Datos de interés sobre el objeto de estudio. También se incluyó una sección inicial de información general en la que se preguntaban datos del productor.

La primera parte se enfocó en la edad del cultivo, extensión de la parcela, frecuencia de poda y producción mensual en quintales. La segunda parte se concentró en el manejo cultural, las prácticas que realiza el productor, y cuando lo hace. También sobre el uso de riego y fertilizantes u otros productos nutricionales o pesticidas. La tercera parte se enfoca en *M. dissimulatum*, el conocimiento de la existencia del chinche, su historial en la plantación y la percepción del agricultor sobre la influencia del mírido en la parcela en los aspectos productivo y económico.

Aplicación de encuestas y tabulación de encuestas

La aplicación de la encuesta se realizó en dos formas. Una parte del total encuestado se lo obtuvo en talleres realizados en el centro de acopio “La Pepa de Oro” en el cantón Vinces (Figura 2.1). El resto se la realizo de forma personalizada a cada agricultor a medida que las visitas para geo-referenciación eran realizadas.

Figura 2.1 A) B) y C) Talleres realizados en instalaciones del centro de acopio “La Pepa de Oro” y D) Toma de encuestas

La tabulación se realizó utilizando una hoja de cálculo de la suite OpenOffice para luego ser procesadas.

2.4. Efecto del microclima de los árboles de cacao sobre el desarrollo de *M. dissimulatum*.

Los datos para medir la incidencia del microclima en el desarrollo de *M. dissimulatum* se obtuvieron a medida que la geo-referenciación era efectuada.

En cada plantación se evaluaron los árboles geo-referenciados, en cada uno se analizaron entre cinco y diez mazorcas para estudiar el daño del chinche. Además de obtener el porcentaje de daño en las mazorcas, por cada árbol se midieron Temperatura (ºC), Humedad (%), parámetros usados también por Babin (2011) [71] en su trabajo sobre el efecto del microclima bajo la copa de los árboles de cacao sobre *Sahlbergella singularis*. Para este trabajo en *M. dissimulatum* también se midieron Luminosidad (Lux), Presión Atmosférica (mb), Velocidad del viento (Km/h), Altura (m.s.n.m.) con la finalidad de encontrar la existencia de algún efecto sobre el mírido.

Para medir la luminosidad se utilizó un medidor de luz marca ®YFE modelo YF-172 con rango de 0.1 – 50000 lux. Los demás parámetros se midieron con una estación meteorológica portátil marca ®Silva modelo ADC-PRO. Las medidas fueron realizadas una sola vez al momento de la visita.

Los datos fueron tabulados en la hoja de cálculo de la suite OpenOffice y asociados a la coordenada geográfica de cada árbol. Este archivo fue

añadido como tabla de atributos en el mapa de infestación. Mediante herramientas del programa QuantumGis se determinaron las zonas donde se presenció daño en mazorcas de *M. dissimulatum*.

2.5. Determinación de la situación actual de la plaga.

Para este fin se utilizó el software estadístico Infostat. Valiéndonos de los datos tabulados de la encuesta se analizó la posible incidencia del manejo de las plantaciones sobre el desarrollo de *M. dissimulatum.*

Se realizó un análisis de correspondencia entre el criterio de los agricultores con respecto a la presencia del chinche y la producción mensual con el objetivo de establecer relaciones entre ellos.

2.6. Obtención y procesamiento de muestras de cacao.

Obtención de muestras

La obtención de muestras de cacao para la determinación de los mecanismos de antixenosis sobre *M. dissimulatum* se la realizo en tres zonas del litoral. Dos en el cantón Vinces, provincia de Los Ríos en la finca del Sr. Jorge Samora, y en las instalaciones del centro de acopio “La pepa de Oro” y predios aledaños. La última zona fue en el CENAE ubicado en el cantón Guayaquil, provincia del Guayas en el campus Gustavo Galindo de la Escuela Superior Politécnica del Litoral.

Se escogieron mazorcas clasificándolas en 3 categorías fenológicas: pequeñas, medianas y grandes (Fig. 2.2). De cada categoría se

coleccionaron diferentes variedades; dos nacionales sanas, dos nacionales picadas, dos CCN-51, dos CCN-51 x Nacional.

Figura 2.2 Mazorcas de cacao en distintas etapas fenológicas. A) Grande, B) mediana y C) pequeña.

Se etiquetaron las muestras y se almacenaron en fundas separadas según la clasificación propuesta para su posterior preparación y procesamiento. Además se realizó una tabla de datos de las muestras más adecuadas consideradas para el análisis siguiendo el formato que muestra la figura 2.3.

Codigo	Variedad	Lugar	Tamaño	Parte de Fruto	Color	Daño	Fenologia
PM001EA	Nacional	Arbol 11	Mediana	Cascara	Verde	0,95	Verde
PM002EA	CCN-51	CENAE	Pequeña	Cascara	Roja	0	Verde
PM003EA	Nacional	Arbol 5	Mediana	Cascara	Verde	0,2	Verde

Figura 2.3 Formato de tabla de Muestras Secas de Cacao

Procesamiento de Muestras de Cacao

Una vez obtenidas y clasificadas las muestras se las procesó en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, en laboratorios de Fitopatología y en el invernadero.

En primer lugar se realizó una desinfección de las mazorcas sumergiéndolas en una solución de cloro al 3% por 15 minutos para luego lavarlas en agua destilada por otros 15 minutos más.

Se procedió luego a separar la cascara de la pulpa cortando las mazorcas por la mitad. Ambas partes fueron luego cortadas en trozos cuadrados de aproximadamente dos o tres centímetros y almacenadas por separado conservando la clasificación anterior.

Las muestras cortadas y clasificadas fueron llevadas a la estufa para su deshidratación a 120° F por 72 horas. Una vez deshidratadas se procedió a la molienda para facilitar la extracción química a la que serán sometidas. Parta esto se utilizó un molino manual casero. Se almaceno cada muestra en fundas rotuladas con sus respectivos códigos.

2.7. Cromatografía de capa fina (TLP) y evaluación de los mecanismos de antixenosis.

La TLC es uno de los métodos de cromatografía en plano en los que se utiliza una fase estacionaria y una móvil. La fase estacionaria debe ser plana y relativamente fina, en ella se desplazara la fase móvil por capilaridad a veces ayudada por gravedad o por un potencial eléctrico.

La cromatografía de Capa fina (TLC) es una técnica simple, de bajo costo y eficiente. Es más sensible y tiene mayor resolución que la cromatografía de papel. Fue Egon Stahl (1956) quien dio nombre y estandarizó los procedimientos, equipos y adsorbentes de esta técnica.

Preparación de extractos para cromatografía

Se prepararon dos extractos a partir de cada muestra seca de cacao. Uno etéreo y otro alcohólico, de forma sucesiva. Para la preparación de los extractos con cada muestra se procedió de la siguiente manera.

De cada muestra se pesaron dos sub-muestras de 3 g, estas eran colocadas en frascos de 250ml. La sub-muestra de cada frasco era humectada con etanol o éter de petróleo según era el caso para luego colocar 9ml de solvente con la que fue saturada. Culminado esto, los frascos eran tapados con rolopac de laboratorio, rotulados y cubiertos con papel aluminio para impedir la volatilización del solvente o el contacto de la solución con la luz.

Los frascos preparados se sometían agitación a 120 rpm por una semana para acelerar la extracción. Luego el contenido de cada frasco era filtrado y colocado en tubos de ensayo conservando el mismo rotulo.

El residuo del extracto etéreo fue reutilizado para someterlo a una extracción alcohólica. Se esperó al siguiente día para dar tiempo a que el éter que no fue filtrado de los frascos se evapore toralmente. Se utilizó el proceso descrito anteriormente para esta segunda extracción.

Preparación de las placas cromatográficas

Los materiales utilizados para llevar a cabo la TLC fueron como fase estacionaria placas de Silica gel G 60 F_{254} marca MERK ,cortadas en forma rectangular de 10 x 20 cm. Como fase móvil se utilizó etanol al 100%, una mezcla de cloroformo y acetona en concentraciones v/v de 50-50 y una mezcla de cloroformo y acetato de etilo en concentraciones v/v de 80-20.

Cada placa era dispuesta de manera horizontal y con un lápiz se le trazaba una línea a 1 cm del borde, sobre esta se marcaron puntos separados a igual distancia como guía para la colocación de extracto.

Desarrollo de la cromatografía

El desarrollo o creación de las placas es el proceso por el cual una muestra es arrastrada de la fase estacionaria por una fase móvil.

Para la aplicación de los extractos en las placas se utilizaron tubos capilares, uno por cada muestra con el fin de evitar mezclas. Cada punto correspondía a una muestra. Después de la aplicación de cada gota se dejaba evaporar el solvente, esto se repetía tres veces en cada punto con el fin de concentrar la muestra.

Una vez lista la placa, se preparaba un recipiente cerrado y saturado con los vapores del solvente de desarrollo (fase móvil). El extremo donde se aplicaron las muestras se introduce en el solvente pero se procura que no tengan contacto directo con ellas, como lo muestra la figura 2.4.

Figura 2.4 Correcta colocación de placas

Se deja correr la placa hasta aproximadamente 3 cm antes del borde superior, momento en que se la retira y rotula la fecha, la fase móvil utilizada y según sea el caso, extracto alcohólico o etéreo.

Revelado de placas y factor de retardo o

Se expuso la placa a luz ultravioleta y se fotografió. Como agente revelador se utilizó una solución de ácido sulfúrico al 5%. Se hizo una aspersión uniforme sobre la placa corrida y luego se la llevo a secar por 5 minutos en una estufa a 100° C.

El factor se determinó midiendo con una regla graduada en centímetros y milímetros, y está dado por:

—

Donde y son distancias lineales medidas desde la línea de aplicación; se mide desde la línea de aplicación hasta el frente del solvente y es una medida por cada muestra, y se mide desde el origen

hasta cada una de las manchas de retraso, por tanto tendrá varias medidas por muestra.

Los valores obtenidos se procesaron con el software estadístico Infostat mediante un gráfico BIPLOT de un análisis de componentes principales.

CAPITULO 3

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Corroboración taxonómica del chinche del cacao.

Un total 20 de individuos fueron examinados para la confirmación de la identidad taxonómica de *M. dissimulatum*. Se consideraron las características con valor diagnóstico propuestas por Distant en Biología Centrali-Americana Sección Hemíptera-Heteróptera. Además, en las revisiones de descripciones propuestas por otros autores, se observan mínimas diferencias en coloración de *M. dissimulatum*.

Fue necesaria la implementación de una metodología de cría masiva del insecto en invernadero para la descripción de las fases de vida. Tal como sugiere *Babin et al.* [71], la dificultad de reproducir míridos del cacao *M. disismulatum* en condiciones controladas fue una limitante para la continuidad de los estudios de la biología de este insecto. Se criaron exitosamente las ninfas colectadas en campo hasta la fase adulta para la descripción

A continuación se describen las fases de vida de *M. dissimulatum* y las comparaciones con las descripciones de Distant.

Huevo: incrustados en la mazorca, son cilíndricos, de colores blanco-cremosos, glabros, alargados y ligeramente ensanchados en el extremo

inferior. Longitud de aproximadamente 4 veces más largo que ancho. Del opérculo se observan dos procesos coriónicos (Figura 3.1) de igual tamaño con terminación globosa. Los procesos de *M. dissimulatum* son característicos en comparación con otras especies de Míridae.

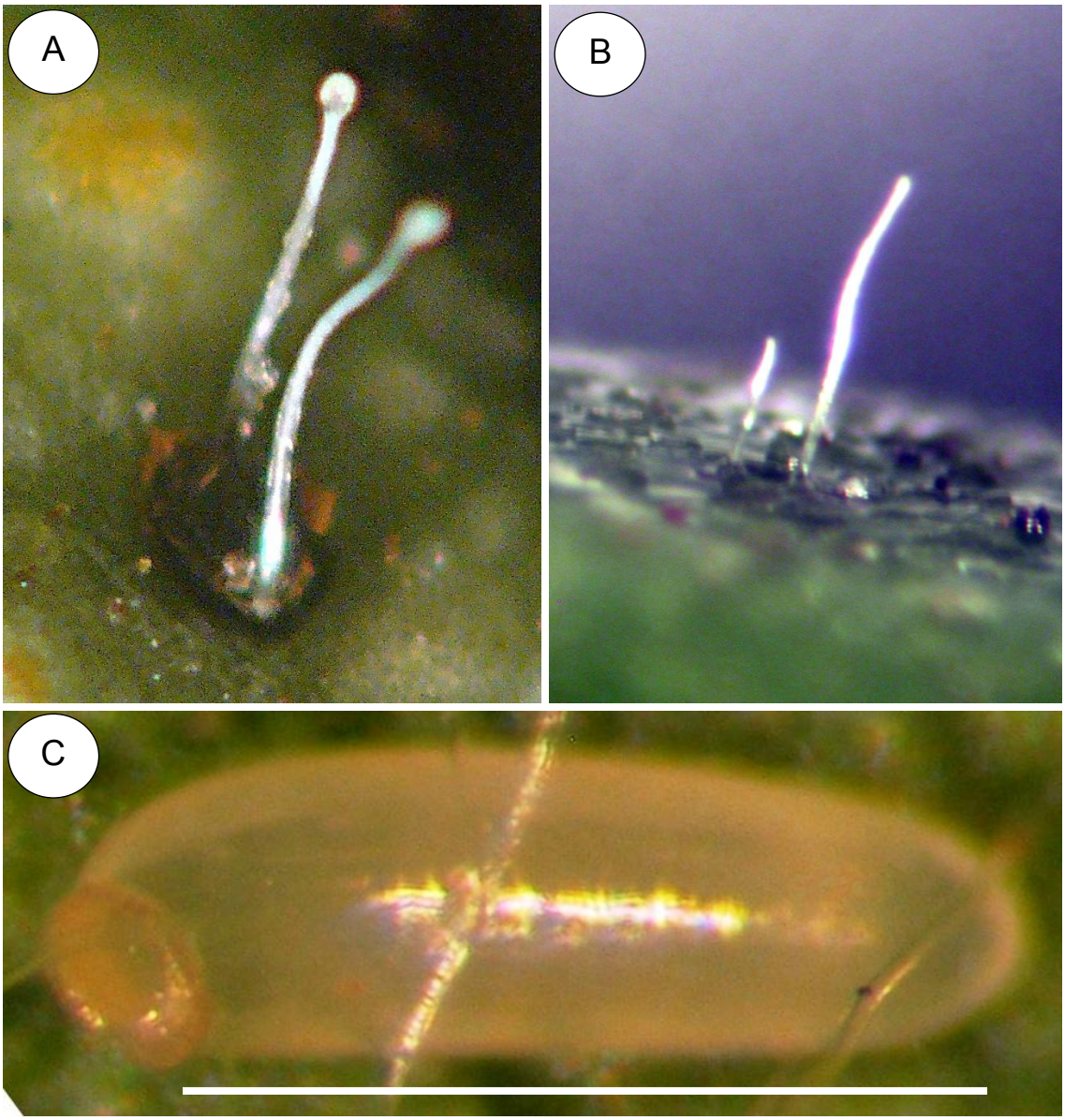


Figura 3.1 Huevos de *M. dissimulatum* y otros míridos. A) Procesos coriónicos de M. dissimulatum. B) procesos coriónicos de Helopeltis sp. C) Forma típica de huevo de míridae. Barra= 1mm.

Ninfas: Son de color naranja y extremadamente frágiles. En altas infestaciones, las ninfas colonizan las mazorcas y provocan el daño. Los apéndices en todos los instares son de color negro. Las ninfas de tercer y cuarto instar presentan paquetes alares definidos.

Adulto: Forma de la cabeza ensanchada y encorvada anteriormente, las bases de las antenas son muy pequeñas y robustas, mientras que las demás inserciones de la antena son más estrechas con abundantes setas. El cuneos es más largo que ancho. Esta especie presenta dimorfismo sexual y variaciones morfológicas entre los especímenes hembra (Figura 3.2). En la hembra, la cabeza, antenas, parte anterior constricta del pronoto, banda transversal ancha al final del corium de coloración negra. La parte membranosa del ala es de color ocre, semi-hialina con los bordes oscuros. Las patas delanteras y medias son de color ocre excepto los tarsos, la base y ápice de los fémures, las patas traseras son de color negro excepto la mitad de los fémures. El resto del cuerpo es de color ocre-anaranjado. Otras hembras presentan el pronoto completamente negro.

Los machos de *M. dissimulatum* difieren de las hembras en la coloración del corium y la membrana de las alas que son de color negro. El pronoto del macho es negro en la parte anterior constricta y el resto ocre-anaranjado. El macho es más pequeño que la hembra (Figura 3.3).

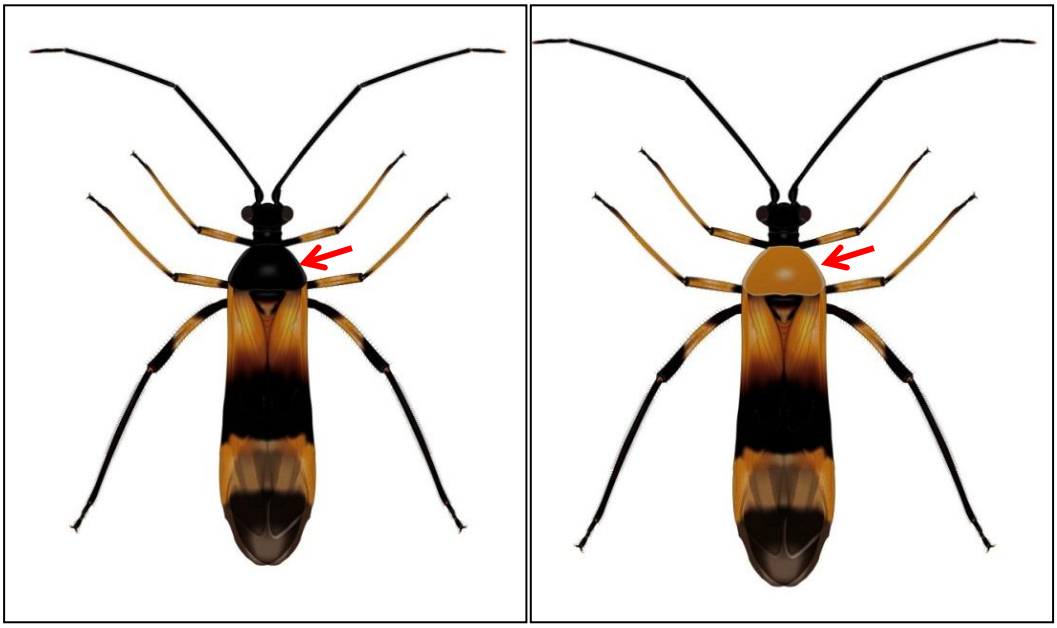


Figura 3.2 Variación morfológica de la hembra de *M. dissimulatum*. Se observa la diferencia en la coloración de la parte posterior ensanchada del pronoto señalada con la flecha.

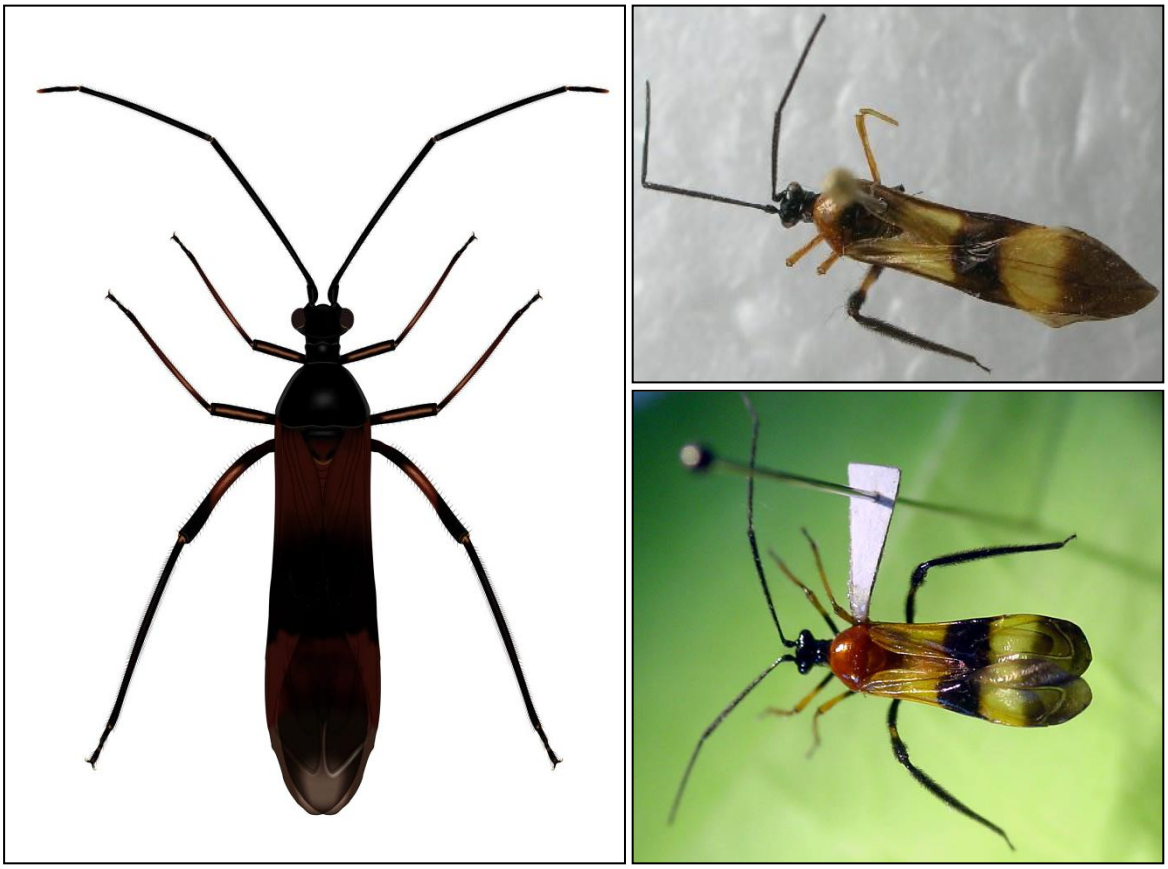


Figura 3.3 A) *M. dissimulatum* macho, se observa la coloración negra del corium y membrana de las alas. B) y C) especímenes de *M. dissimulatum* hembras depositados en los museos ESSING de California y el nacional del Perú respectivamente.

3.2. Muestreo y Geo-referenciación de fincas.

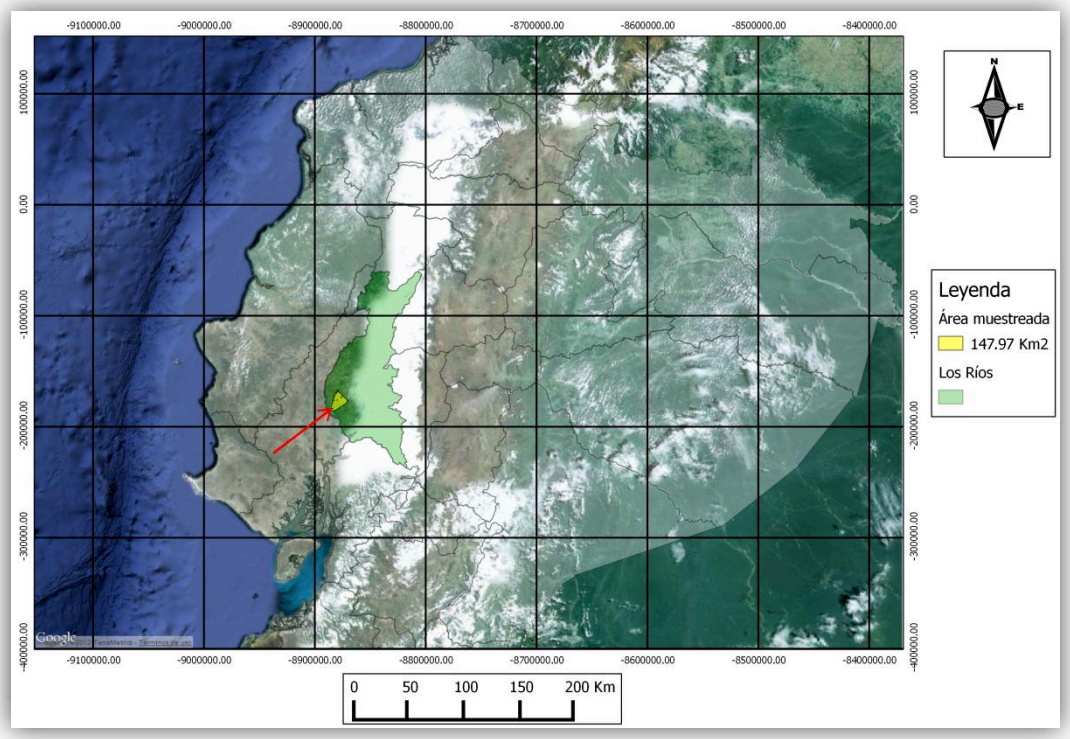


Figura 3.4 Ubicación Geográfica de fincas muestreadas.

La zona que comprende este estudio se ubica al suroeste de la provincia de Los Ríos (Figura 3.4). Se geo-referenciaron 27 fincas en un área de 147.97 Km^2. La distancia media observada entre fincas fue de 825.32 m.

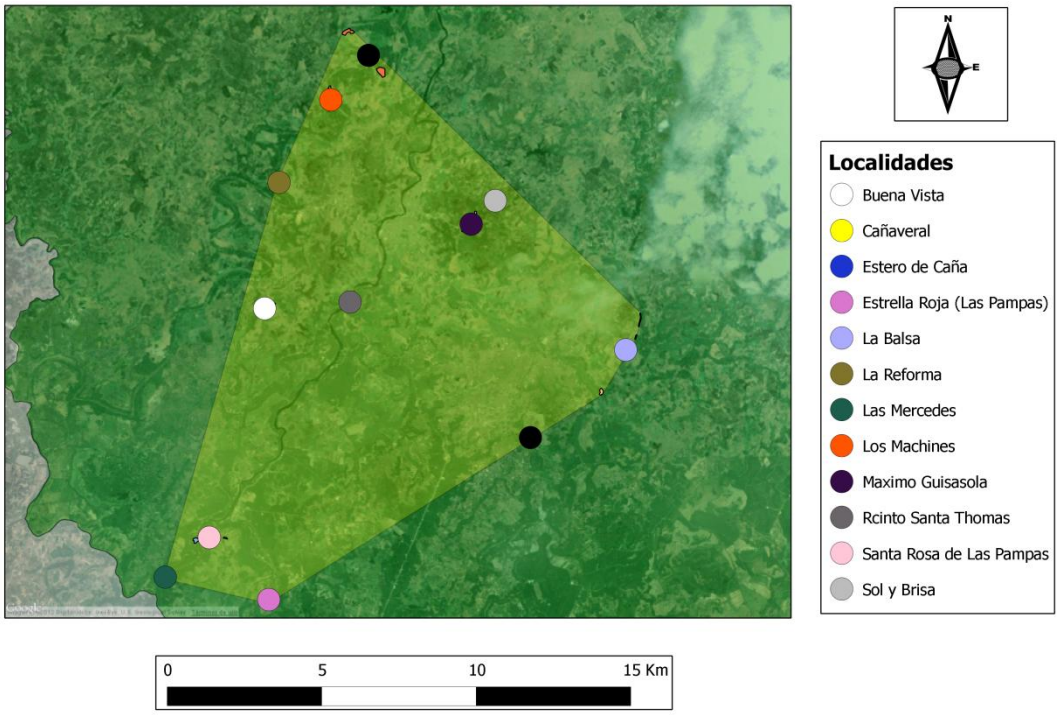


Figura 3.5 Localidades dentro del área muestreada

En total se georeferenciaron fincas pertenecientes a 12 localidades distintas (Figura 3.5) alejadas entre sí por una distancia media observada de 2.45 Km. Se observó que en dos de estas existían fincas con presencia de *M. dissimulatum*. Estas fueron en las localidades de Buena Vista y Cañaveral.

En 2010 en la localidad La Reforma se reportó un severo ataque de *M. dissimulatum* (Información de MCCH) aunque en el presente trabajo no se registraron daños en dicho lugar; un análisis de SIG (Figura 3.6) utilizando coberturas de Áreas Propensas a Inundaciones nos lleva a la conclusión de que el fuerte invierno produjo escases de alimento para el chinche lo

que redujo drásticamente su población y evitó su propagación a fincas aledañas, por lo menos en las que no sufren peligros de inundación.

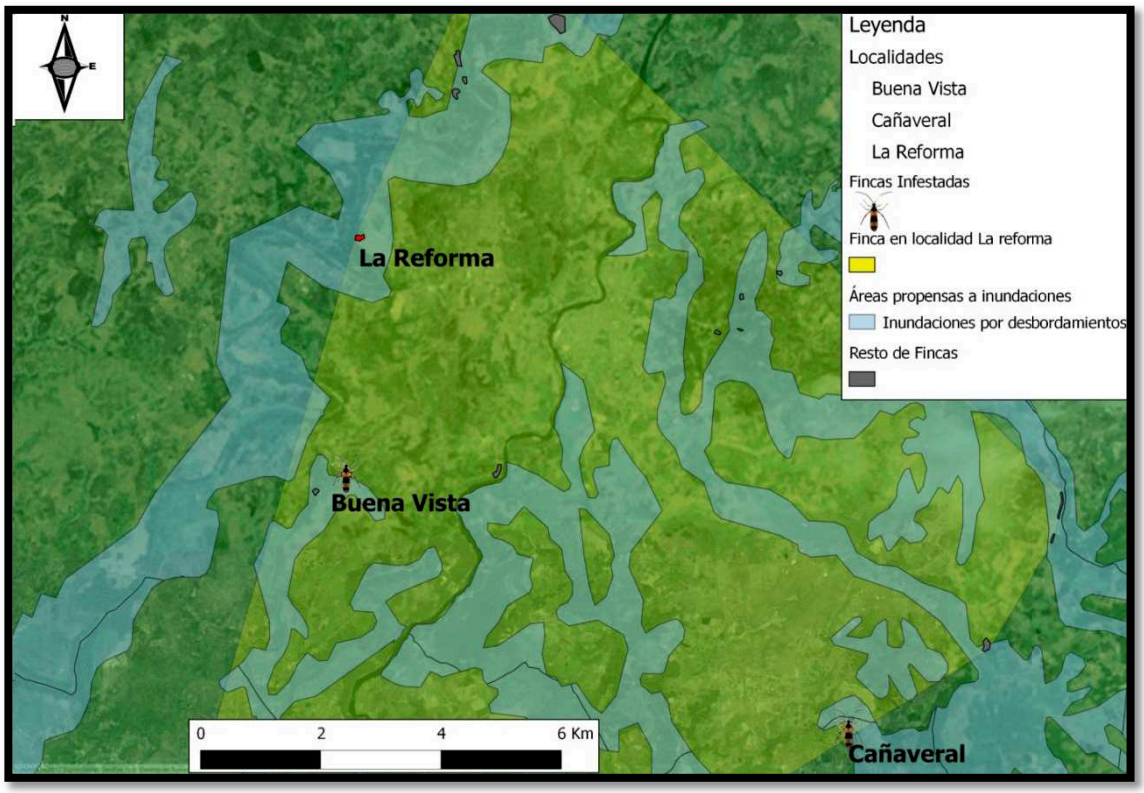


Figura 3.6 Fincas con presencia de M. dissimulatum

3.3. Situación actual de *M. dissimulatum*.

Después de realizar un análisis exploratorio de los datos obtenidos de las encuestas aplicadas, se puede apreciar la homogeneidad del tamaño de las unidades de producción en las fincas de cacao orgánico. Sin embargo, y no menos conveniente para el análisis resulta el conocimiento de la variabilidad de las plantaciones y la posible influencia sobre el manejo de plagas y enfermedades en plantaciones jóvenes o viejas.

El gráfico de barras (Figura 3.7) muestra la tendencia de los datos en las localidades monitoreadas. Estos datos se consideran de vital importancia al momento de implementar los paquetes de manejo integrado de plagas pues la respuesta puede obedecer en muchos casos a la edad de la plantación.

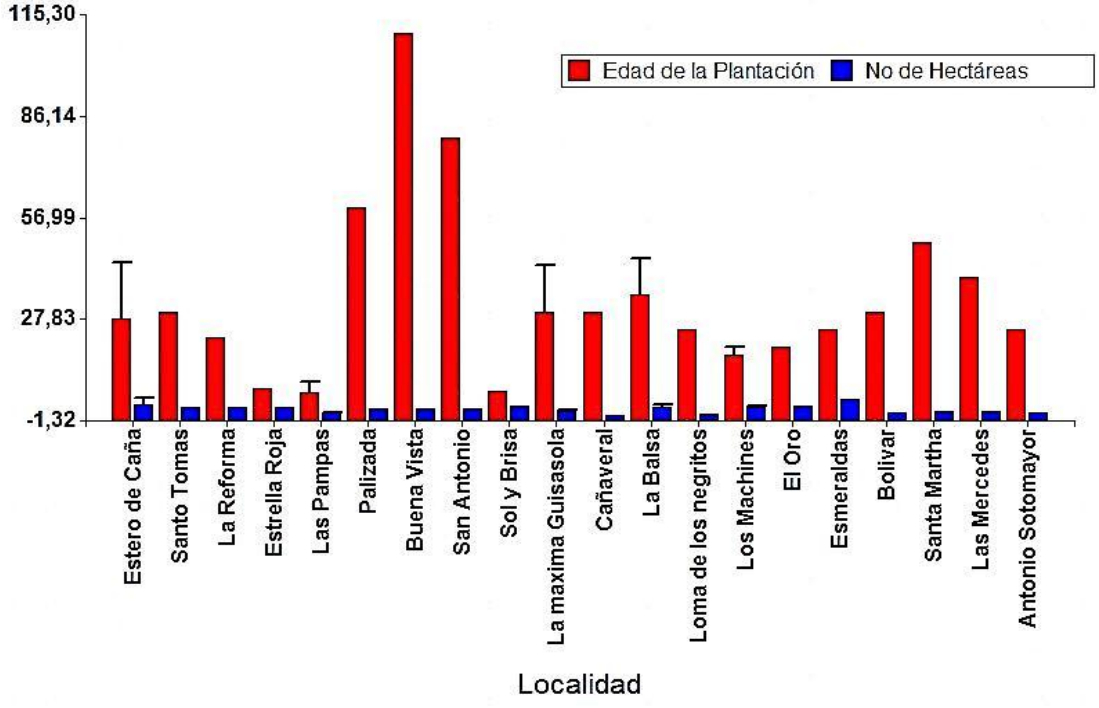


Figura 3.7 Tendencia de los datos en las localidades monitoreadas.

Por otro lado, con los datos estadios de las unidades de análisis se lograron establecer relaciones a criterio de los agricultores entre la presencia del chinche y la producción mensual estimada de cacao. Se realizaron análisis de correspondencias entre las variables mencionadas y se seleccionaron los gráficos que expliquen más del 70% de la variabilidad de los datos obtenidos.

Se aprecia claramente que en los meses de Enero, Febrero, Octubre y Noviembre en donde los productores reportaron la incidencia de ***M. dissimulatum*** en las fincas (Variable SI en la gráfica de la Figura 3.8 y 3.9), los valores más altos de producción son atribuidos a la ausencia del chinche en la plantación, mientras que no existe una asociación entre la ausencia del chinche y valores de producción altos reportados en las fincas.

Se comprobó con este análisis que *M. dissimulatum* es considerado como plaga potencial del cacao por los productores en la provincia de los Ríos.

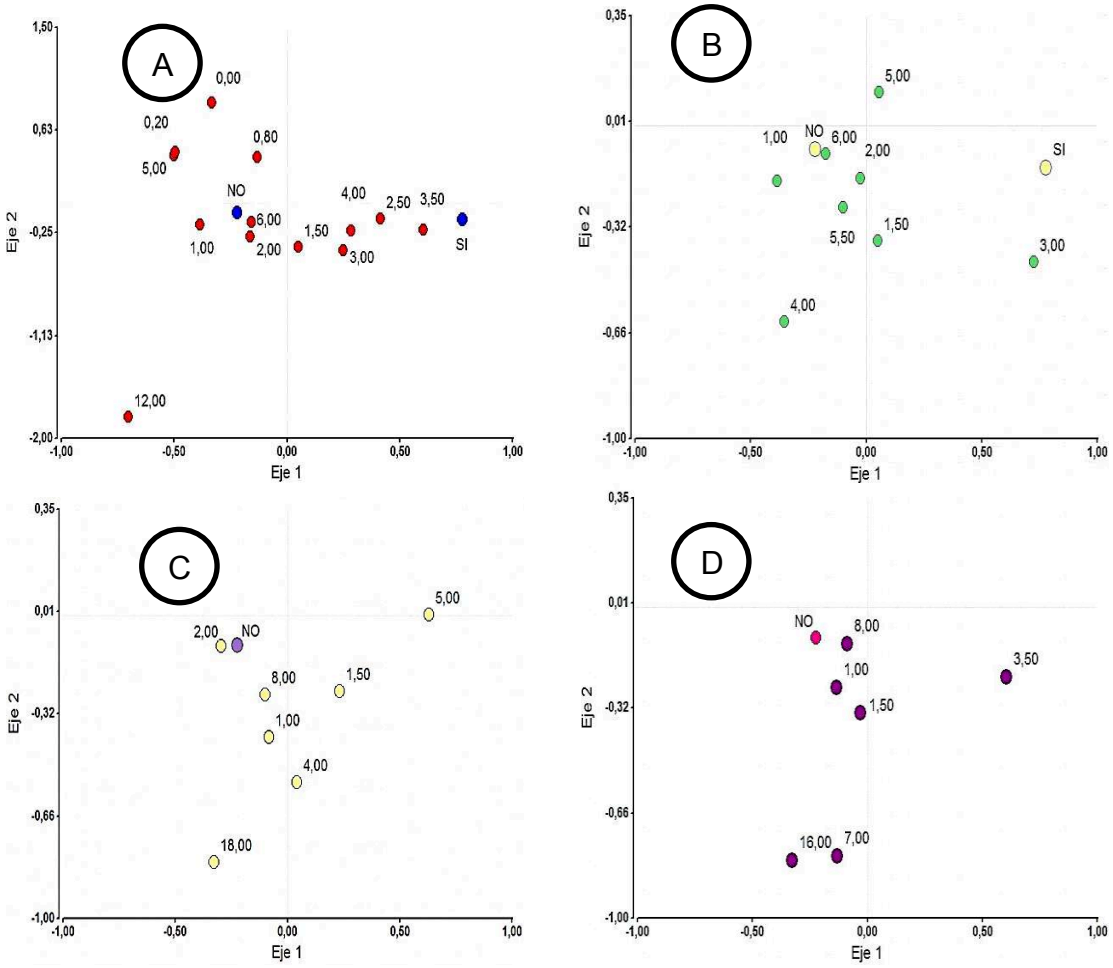


Figura 3.8 Análisis de correspondencias durante los meses de A) Enero, B) Febrero, C) Marzo, D) Abril.

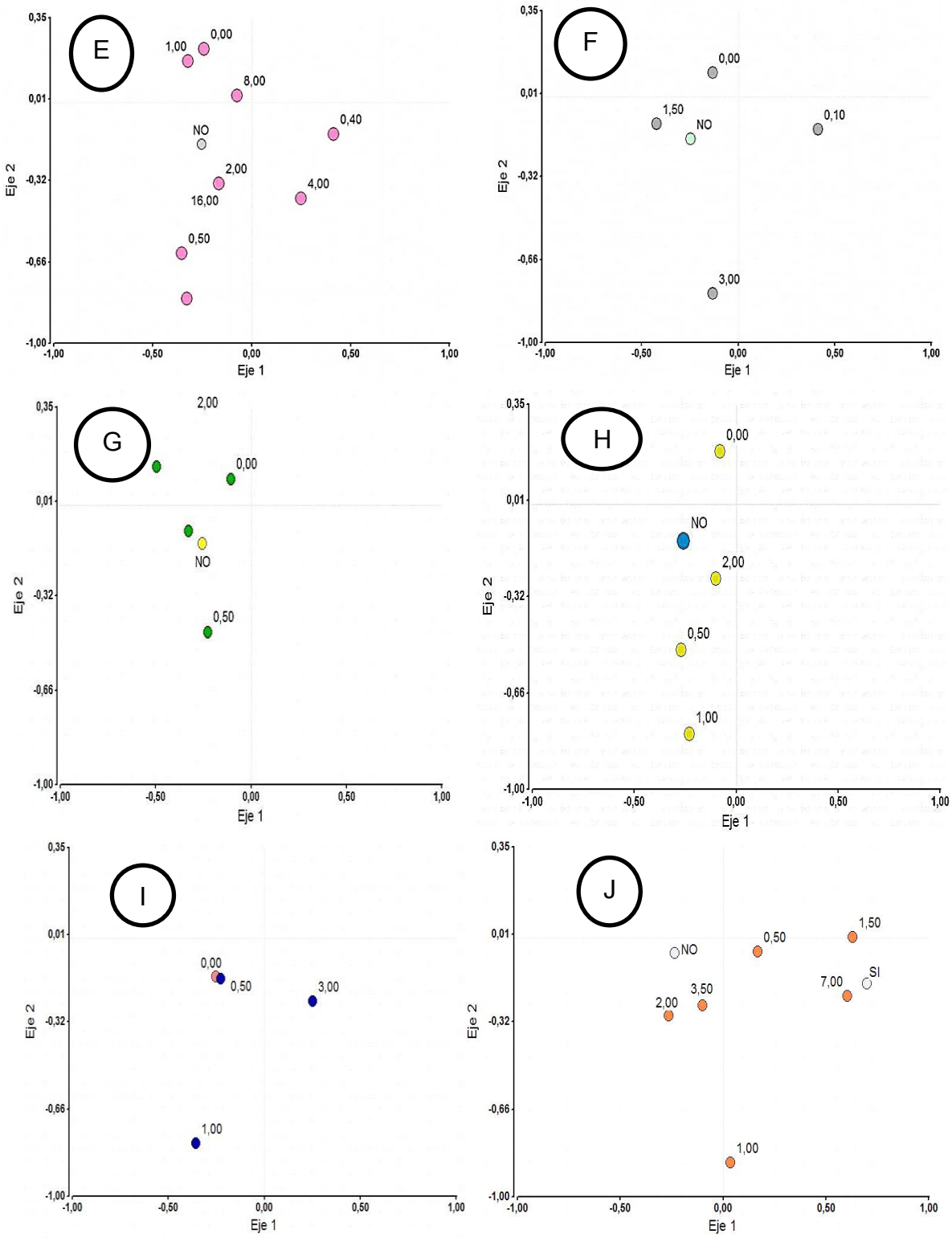


Figura 3.9 Análisis de correspondencia de los meses de E) Mayo, F) Junio, G) Julio, H) Agosto, I) Septiembre, J) Octubre.

3.4. Efecto del microclima de las cacaoteras sobre el desarrollo de M. dissimulatum.

La relación existente entre el microclima medido por las variables: temperatura, humedad relativa, luminosidad y velocidad del viento fue determinada mediante un análisis de correlación de Pearson. Por otra parte en una matriz de correlaciones, se aprecian las tendencias de las relaciones existentes entre las variables del microclima de las plantaciones de cacao y la presencia de *M. dissimulatum* en las fincas.

Se demostró la independencia de las variables climáticas y la presencia del chinche en la fincas de cacao, similares resultados fueron obtenidos por Babin 2011 [71] en la medición del efecto del microclima de los árboles del cacao sobre el comportamiento de *Sahlbergella singularis*. Una ligera relación inversa (=-0,07) se observa entre la presencia de *M. dissimulatum* y la luminosidad de la plantación que está dada por la poda que se haga efectuado en la finca. En ese sentido, para nuestro entendimiento, se confirma la ausencia del chinche al efectuar podas en las plantaciones.

Por otro lado, dos relaciones estadísticamente significativas se observan entre las variables de largo (=0,07; $p<0,05$) y diámetro (=0,08; $p<0,05$) de las mazorcas. Este hecho, se puede relacionar también con los mecanismos de antixenosis sobre *M. dissimulatum* que presentan ciertos árboles de cacao. Sin embargo, de observaciones realizadas en campo, se puede concluir que el ataque de *M. dissimulatum* a mazorcas pequeñas conlleva a la muerte de los frutos.

La matriz de correlaciones (Figura 3.10) muestra todas las relaciones existentes entre las combinaciones de variables. Los recuadros marcados con rojo, resaltan la relación positiva significativa con las dimensiones de la mazorca. Se observa también dependencia entre otras variables.

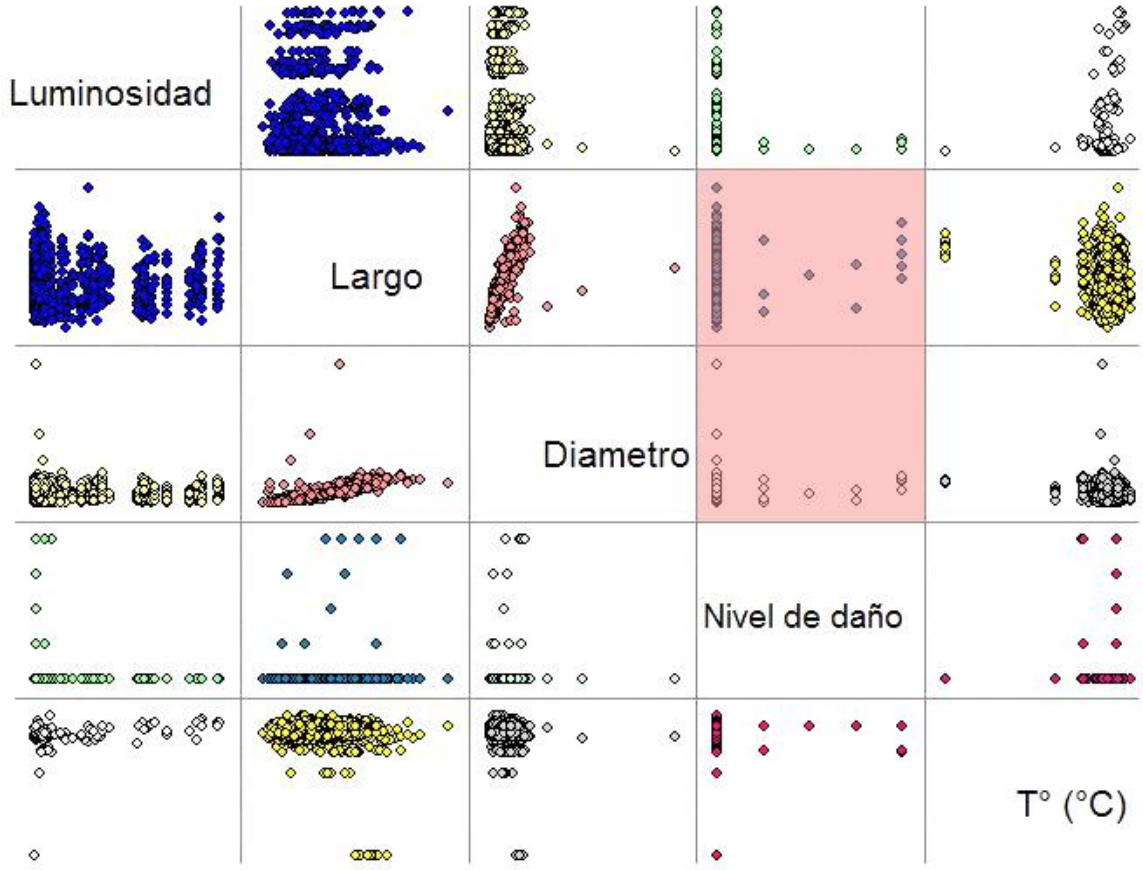


Figura 3.10 Matriz de correlaciones entre variables climáticas y presencia del chinche.

Los valores sombreados con gris en la tabla 3.1 corresponden a los coeficientes de correlación de Pearson, los valores en rojo son los de mayor importancia en el análisis y fueron discutidos con anterioridad. Los valores en verde corresponden a los de probabilidad.

	Luminosidad (Lux)	Vel. Viento (Km/h)	T° (°C)	H (%)	Largo	Diametro	M. Dissimulatum
Luminosidad (Lux)	1	0,4	0	0	0,05	0,93	0,05
Vel. Viento (Km/h)	0,03	1	0,42	0	0,24	0,33	0,2
T° (°C)	0,29	-0,03	1	0	0	0	0,35
H (%)	-0,30	-0,18	-0,18	1	0	0,17	0,21
Largo	0,07	0,04	-0,16	-0,11	1	0	**0,02**
Diametro	0	0,03	-0,17	-0,05	0,73	1	**0,01**
M.dissimulatum	**-0,07**	-0,04	-0,03	-0,04	**0,07**	**0,08**	1

Tabla 3.1 Correlación entre variables

En este trabajo no se pretendió estudiar la dinámica poblacional del chiche del cacao por lo que las variables climáticas no fueron monitoreadas de forma periódica. Los valores de las variables que generan el microclima de las fincas fueron similares en todas las localidades monitoreadas. Sin embargo, la luminosidad que depende de la hora del día en la que se efectúo el muestreo y de la poda que se haya realizado en los árboles de cacao no obedece a un patrón de distribución específico.

3.5. Mecanismos de antixenosis.

Se investigaron los posibles factores que podrían contribuir a la antixenosis de los árboles de cacao sobre *M. dissimulatum*. En ese sentido, en un análisis previo se determinó una ligera relación entre la infestación del chinche del cacao con el tamaño de la mazorca. Varios reportes han sido presentados por otros autores sobre los mecanismos de antixenosis para la selección de cultivares. Sin embargo, todos estos estudios han estado

limitados observaciones y/o a ensayos realizados en campo. Así un análisis cromatográfico profundo fue necesario para descifrar esos mecanismos químicos involucrados en la preferencia de *M. dissimulatum* sobre ciertos cultivares.

Se determinaron diferencias cualitativas de la composición química de las muestra de plantas evaluadas mediante el Análisis de cromatografía de capa fina. Dicho análisis dado por los valores separa los datos en cuatro grupos: Cacao Nacional, Cacao Nacional picado por *M. dissimulatum*, Cacao CCN51, unas muestras a las que se denominaron Mezcla por presentar características morfológicas diferentes entre las variedades de cacao nacional.

Se analizaron los valores mediante un gráfico BIPLOT obtenido de un análisis de componentes principales.

Se observan los grupos claramente diferenciados por su composición química medidas cualitativamente (Figura 3.11). Sin embargo, un estudio posterior más profundo fue realizado mediante GC-MASS en el CIBE (Miranda 2012, dato sin publicar). En donde se pudieron caracterizar compuestos como: 4-metil-2,6-diterbutil-fenol, 2,6-di terbutil-4-metoxy-fenol (Ionol 4) ambos antioxidantes; también se encontró cafeína que tiene acción insecticida, y oleatos vegetales también usados para combatir insectos en cultivos.

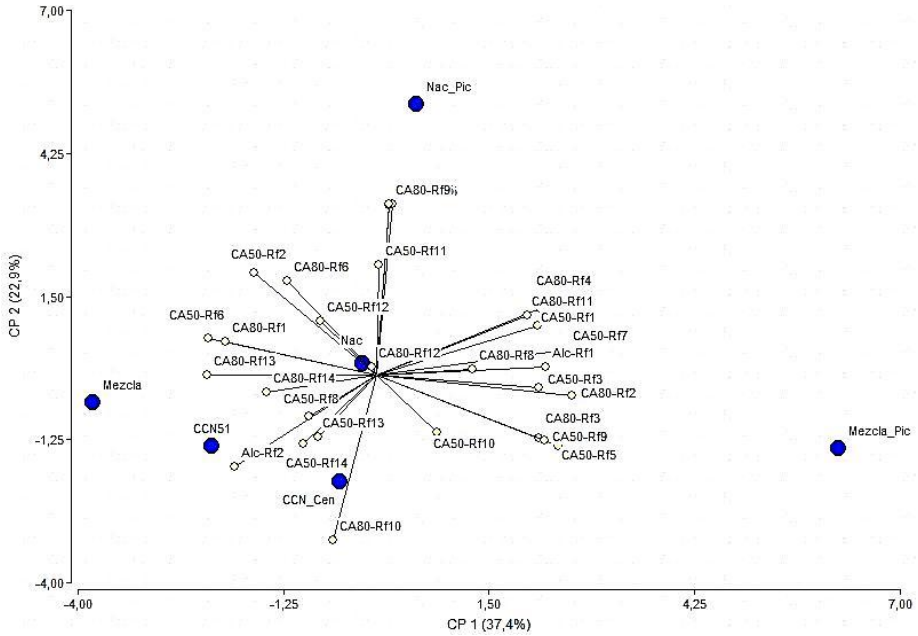


Figura 3.11 Diagrama de componentes principales de valores Rf

CAPITULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- *M. dissimulatum* por pertenecer a la familia Míridae posee características en común con otras especies del mismo grupo. Sin embargo, sus procesos corionicos son característicos en terminación globosa. Las ninfas a partir del tercer instar presentan paquetes alares bien definidos. La especie presentan dimorfismo sexual y variaciones morfológicas entre los especímenes de la hembra. El macho se diferencia de la hembra en el color de su corium y la membrana de las alas que es completamente negra, es más pequeño que la hembra.
- Se georeferenciaron 27 fincas en 12 localidades del cantón Vinces provincia de Los Ríos. La distancia media observada entre fincas fue 825.32 m mientras que entre localidades fue 2.45 Km. En el periodo de estudio se encontró que dos fincas aún tenían problemas a causa de *M. dissimulatum.*
- Las inundaciones invernales en algunas zonas aunque perjudicaron la producción de cacao, se observa que también coinciden con la desaparición del chinche en algunas fincas.
- En la zona predominan pequeños productores. El tamaño de las unidades de producción es homogéneo la mayoría con menos de 2.5

has. La edad de las plantaciones en su mayoría no pasaba de los 40 años. Aunque hubieron algunas de más de 80. Estos últimos son los que en teoría deberían conservar los genes más puros de cacao nacional. Enero, Febrero, Octubre y Noviembre son los meses en los que los productores reportan la mayor incidencia de *M. dissimulatum*. Se determinó que los agremiados consideran a *M dissimulatum* como plaga para sus parcelas

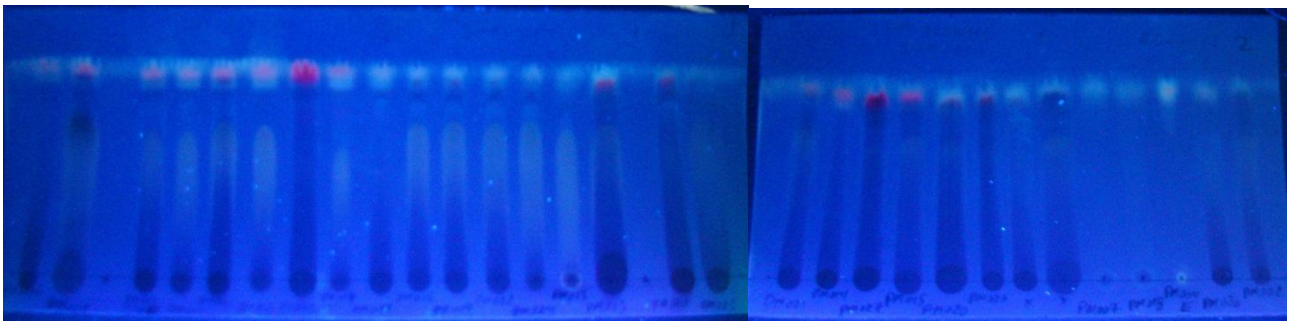
- Se encontró, al igual que Babin (2011) en estudios sobre *S. singularis*, que la humedad relativa y la temperatura no afectan la presencia o ausencia de *M. dissimulatum.* Las variables que si se correlacionaron con la presencia de *M. dissimulatum* fueron el largo y el diámetro de las mazorcas de cacao (=0,07; p<0,05) y (=0,08; p<0,05) respectivamente. También existió una ligera relación inversa entre presencia del chinche y la luminosidad (=-0,07); lo cual sugiere que las podas a tiempo podrían prevenir un ataque severo.
- Se confirmó que la variedad CCN-51 y sus mezclas poseen antixenosis sobre *M. dissimulatum*. Un análisis químico más profundo revelo compuestos insecticidas, oleatos vegetales y antioxidantes que posiblemente sean la clave para revelar los mecanismos de defensa implicados. Los compuestos destacados son la cafeína, 4-metil-2,6-diterbutil-fenol, 2,6-di terbutil-4-metoxy-fenol (Ionol 4).

RECOMENDACIONES

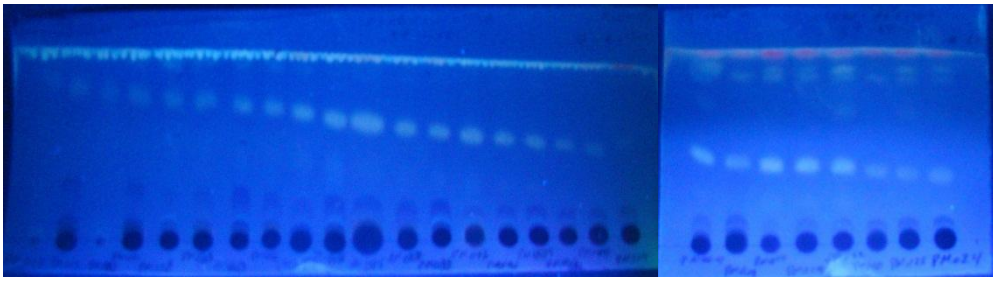
- Se recomienda perfeccionar un método masivo de cría para *M. dissimulatum* en condiciones de laboratorio para posteriores investigaciones sobre su biología y control.
- Se recomienda la continuidad en las investigaciones sobre biología de *M. dissimulatum*, un buen punto para empezar seria determinar mediante tablas de vida la duración de cada etapa de desarrollo del insecto.
- Se deben realizar análisis más profundos sobre los compuestos encontrados en este trabajo e identificar cual efectivamente es el responsable de la propiedad antixenotica. Ya que es probable que dicho compuesto pueda ser sintetizado y usado como repelente para los cultivares.

APÉNDICES

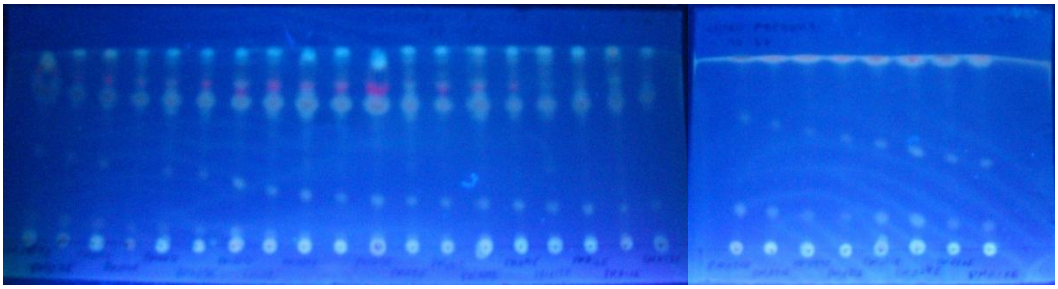
Tabla de Valores RF y Placas de capa fina reveladas



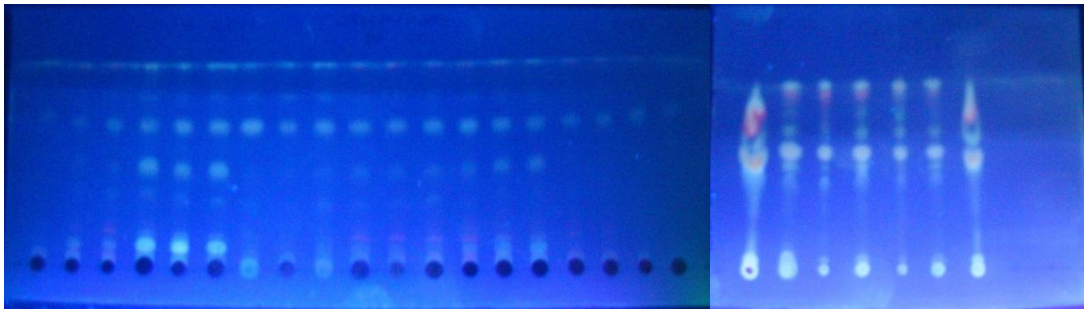
Fecha	**03-10-2012**		
Placa	Alcohol		
Solvente	Alcohol		
		h	m1
1	PM006	5,6	0
2	PM001	5,6	0,714285714
3	PM012	5,6	0,642857143
4	PM004	5,6	0,642857143
5	PM011	5,6	0,696428571
6	PM016	5,6	0,660714286
7	PM008	5,6	0
8	PM017	5,6	0
9	PM019	5,6	0
10	PM005	5,3	0,735849057
11	PM009	5,4	0,740740741
12	PM022	5,4	0,740740741
13	PM024	5,5	0,727272727
14	PM013	5,3	0,698113208
15	PM003	5,3	0,622641509
16	PM010	5,4	0
17	PM025	5,5	0,672727273
18	PM021	5	0,76
19	PM014	4,8	0
20	PM023	4,9	0,693877551
21	PM015	4,8	0,75
22	PM020	4,8	0,6875
23	PM027	4,9	0,673469388
24	PM007	5	0
25	PM018	5	0
26	PM026	5	0
27	PM002	5,3	0,698113208



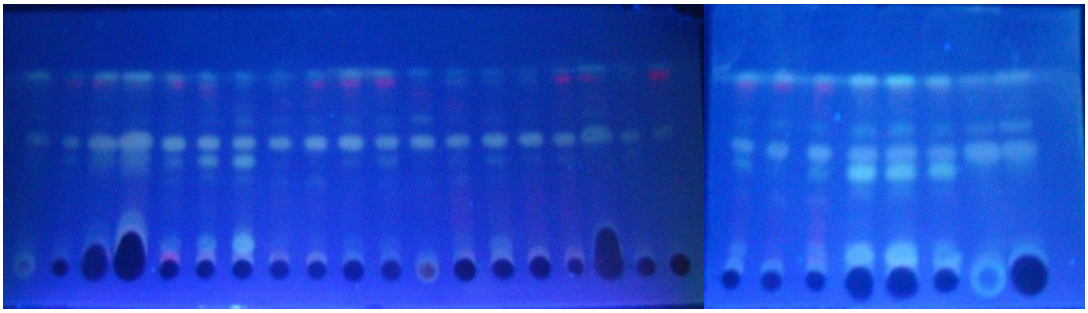
Fecha	**04-10-2012**							
Placa	Alcohol							
Solvente	Cloro-Acetona 50-50							
		h	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7
1	PM007	5,8	0	0	0	0	0	0	0
2	PM002	5,8	0,034	0,086	0,224	0,776	0	0	0
3	PM018	5,7	0,789	0	0	0	0	0	0
4	PM021	5,7	0,035	0,07	0,263	0	0	0	0
5	PM026	5,7	0,07	0,246	0,754	0	0	0	0
6	PM020	5,7	0,035	0,07	0,105	0,246	0,421	0,544	0
7	PM023	5,7	0,035	0,088	0,228	0,491	0,737	0,93	0
8	PM003	5,6	0,036	0,054	0,071	0,214	0,5	0,714	0,946
9	PM014	5,5	0,036	0,055	0,182	0,455	0,691	0,945	0
10	PM011	5,5	0,036	0,055	0,182	0,418	0,636	0	0
11	PM016	5,5	0,055	0,164	0,6	0	0	0	0
12	PM015	5,4	0,056	0,167	0,593	0	0	0	0
13	PM027	5,4	0,056	0,167	0,611	0	0	0	0
14	PM013	5,3	0,151	0,623	0	0	0	0	0
15	PM012	5,3	0,057	0,151	0,566	0	0	0	0
16	PM006	5,2	0,038	0,154	0,558	0	0	0	0
17	PM005	5,2	0,038	0,135	0,558	0	0	0	0
18	PM009	5,2	0,058	0,135	0,481	0	0	0	0
19	PM008	5,2	0,077	0,154	0,481	0	0	0	0
20	PM004	5,6	0,054	0,125	0,446	0,732	0,893	0	0
21	PM001	5,6	0,036	0,107	0,411	0,857	0	0	0
22	PM017	5,5	0,036	0,091	0,4	0,873	0,564	0	0
23	PM019	5,5	0,036	0,091	0,418	0,873	0,909	0	0
24	PM022	5,6	0,036	0,071	0,393	0,536	0,857	0,893	0
25	PM010	5,6	0,036	0,071	0,357	0,839	0	0	0
26	PM025	5,6	0,036	0,071	0,357	0,661	0,821	0,875	0



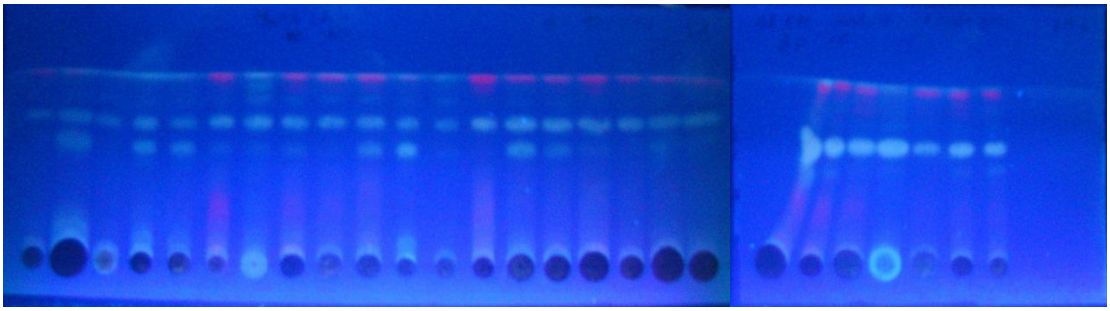
Fecha	**04-10-2012**							
Placa	Éter							
Solvente	Cloro-Acetona 50-50							
		h	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7
1	PM004E	5,5	0,145	0,473	0,836	0	0	0	0
2	PM007E	5,6	0,107	0,429	0,768	0,857	0	0	0
3	PM005E	5,7	0,088	0,404	0,737	0,807	0	0	0
4	PM006E	5,7	0,088	0,737	0,825	0,93	0	0	0
5	PM001E	5,6	0,071	0,375	0,732	0,821	0,946	0	0
6	PM003E	5,6	0,054	0,357	0,714	0,804	0,964	0	0
7	PM002E	5,6	0,054	0,321	0,714	0,768	0,804	0,893	0,964
8	PM008E	5,6	0,054	0,125	0,75	0,821	0,839	0,964	0
9	PM009E	5,7	0,07	0,263	0,702	0,789	0,93	0	0
10	PM010E	5,8	0,052	0,224	0,69	0,776	0,81	0,966	0
11	PM013E	5,8	0,052	0,224	0,69	0,776	0,914	0	0
12	PM012E	5,8	0,052	0,224	0,69	0,776	0,914	0	0
13	PM011E	5,7	0,053	0,316	0,719	0,772	0,807	0,86	0,947
14	PM019E	5,8	0,052	0,293	0,69	0,776	0,81	0,931	0
15	PM014E	5,8	0,052	0,31	0,69	0,776	0	0	0
16	PM015E	5,8	0,052	0,293	0,69	0,81	0,948	0	0
17	PM016E	5,8	0,052	0,19	0,724	0,776	0,931	0	0
18	PM017E	5,7	0,053	0,193	0,702	0,842	0,947	0	0
19	PM018E	5,7	0,053	0,211	0,754	0,842	0	0	0
20	PM020E	5,6	0,232	0,679	0,964	0	0	0	0
21	PM021E	5,6	0,018	0,196	0,821	0,964	0,982	0	0
22	PM023E	5,6	0,179	0,625	0,946	0,982	0	0	0
23	PM022E	5,6	0,179	0,589	0,964	0,982	0	0	0
24	PM025E	5,6	0,071	0,161	0,536	0,946	0,964	0	0
25	PM024E	5,6	0,143	0,518	0,946	0,964	0	0	0
26	PM026E	5,6	0,321	0,482	0,946	0,964	0	0	0
27	PM027E	5,6	0,125	0,429	0,929	0,946	0	0	0



Fecha	**04-10-2012**								
Placa	Éter								
Solvente	Cloro-Acetato 80-20								
		h	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7
1	PM024E	5,7	0,07	0,228	0,754	0	0	0	0
2	PM025E	5,5	0,055	0,109	0,491	0,691	0,836	0	0
3	PM010E	5,6	0,054	0,089	0,107	0,179	0,357	0,482	0,696
4	PM020E	5,5	0,055	0,109	0,182	0,364	0,491	0,709	0,855
5	PM026E	5,6	0,054	0,107	0,161	0,339	0,482	0,696	0,839
6	PM021E	5,6	0,054	0,107	0,161	0,321	0,482	0,5	0,839
7	PM018E	5,6	0,054	0,161	0,304	0,679	0,821	0	0
8	PM002E	5,6	0,054	0,161	0,286	0,464	0,679	0,75	0
9	PM007E	5,5	0,073	0,127	0,164	0,291	0,473	0,691	0,855
10	PM027E	5,6	0,054	0,107	0,143	0,304	0,482	0,679	0,821
11	PM016E	5,5	0,055	0,109	0,164	0,327	0,455	0,691	0,818
12	PM011E	5,5	0,055	0,109	0,164	0,327	0,473	0,709	0,855
13	PM014E	5,6	0,054	0,089	0,143	0,321	0,482	0,696	0,821
14	PM003E	5,6	0,054	0,107	0,161	0,5	0,696	0,821	0
15	PM023E	5,6	0,054	0,143	0,161	0,357	0,5	0,696	0,821
16	PM009E	5,7	0,053	0,158	0,719	0	0	0	0
17	PM005E	5,7	0,07	0,175	0,719	0	0	0	0
18	PM006E	5,8	0,052	0,172	0,724	0	0	0	0
19	PM012E	3,8	0,079	0,289	0,895	1,158	0	0	0
20	PM013E	4,9	0,061	0,531	0,776	0	0	0	0
21	PM027E	4,9	0,061	0,49	0,612	0,735	0,816	0,959	0
22	PM022E	4,9	0,061	0,469	0,551	0,612	0,918	0	0
23	PM019E	4,9	0,061	0,531	0,592	0,694	0,816	0,918	0
24	PM017E	4,8	0,063	0,479	0,625	0,729	0,833	0,958	0
25	PM001E	4,9	0,061	0,469	0,551	0,612	0,714	0,939	0
26	PM004E	4,8	0,063	0,583	0,688	0,833	0	0	0

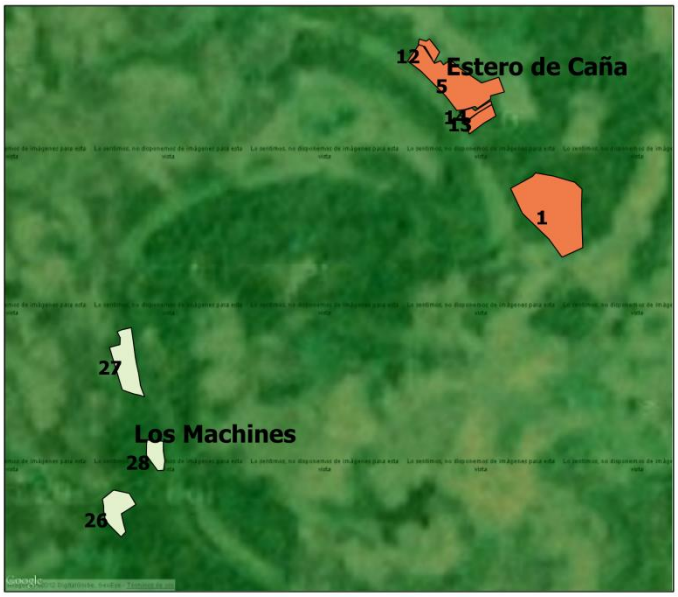


Fecha	**05-10-2012**							
Placa	Alcohol							
Solvente	Cloro-Acetato 80-20							
		h	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7
1	PM007	5,3	0,075	0,132	0,509	0,566	0,642	0,755	0,925
2	PM015	5,4	0,056	0,315	0,537	0,63	0,741	0,907	0
3	PM016	5,3	0,094	0,151	0,566	0,642	0,925	0	0
4	PM011	5,2	0,154	0,192	0,558	0,654	0,75	0,942	0
5	PM014	5,3	0,057	0,132	0,528	0,623	0,717	0,925	0
6	PM003	5,3	0,057	0,132	0,566	0,642	0,925	0	0
7	PM023	5,3	0,075	0,132	0,547	0,642	0,925	0	0
8	PM009	5,3	0,057	0,642	0,925	0	0	0	0
9	PM005	5,3	0,057	0,453	0,623	1,113	0	0	0
10	PM006	5,3	0,057	0,547	0,642	0,736	0,925	0	0
11	PM012	5,2	0,058	0,135	0,442	0,635	0,942	0	0
12	PM013	5,3	0,057	0,547	0,623	0,755	0,943	0	0
13	PM027	5,3	0,057	0,453	0,547	0,642	0,925	0	0
14	PM022	5,3	0,057	0,132	0,509	0,623	0,925	0	0
15	PM019	5,4	0,056	0,537	0,648	0,926	0	0	0
16	PM017	5,3	0,038	0,075	0,547	0,623	0,925	0	0
17	PM001	5,3	0,094	0,66	0,755	0,943	0	0	0
18	PM004	5,4	0,056	0,537	0,63	0,944	0	0	0
19	PM008	5,4	0,074	0,648	0,944	0	0	0	0
20	PM025	4,8	0,063	0,146	0,563	0,646	0,938	0	0
21	PM024	4,8	0,063	0,521	0,604	0,938	0	0	0
22	PM010	4,6	0,065	0,109	0,174	0,391	0,5	0,739	0,957
23	PM020	4,7	0,064	0,085	0,149	0,532	0,617	0,723	0
24	PM026	4,7	0,064	0,128	0,532	0,617	0,745	0	0
25	PM021	4,7	0,043	0,064	0,191	0,532	0,617	0,723	0
26	PM018	4,7	0,064	0,638	0,745	0	0	0	0
27	PM002	4,7	0,085	0,106	0,617	0,745	0,83	0	0



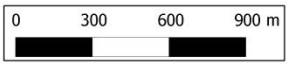
Fecha	**09-10-2012**							
Placa	EA							
Solvente	Cloro-Acetato 80-20							
		h	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7
1	PM026EA	5,2	0,058	0,635	0	0	0	0	0
2	PM010EA	5,2	0,077	0,154	0,25	0,615	0,712	0,942	0
3	PM020EA	5,1	0,059	0,725	0,863	0,961	0	0	0
4	PM015EA	5,1	0,059	0,137	0,588	0,725	0,941	0	0
5	PM009EA	5,1	0,059	0,118	0,588	0,706	0,961	0	0
6	PM025EA	5,1	0,02	0,059	0,588	0,725	0,961	0	0
7	PM013EA	5,1	0,059	0,588	0,745	0,863	0,941	0	0
8	PM011EA	5,1	0,039	0,059	0,588	0,725	0,843	0,922	0,961
9	PM024EA	5,2	0,827	0,846	0,731	0,962	0	0	0
10	PM019EA	5,1	0,059	0,588	0,725	0,961	0	0	0
11	PM001EA	5,1	0,039	0,059	0,098	12,35	0,725	0,863	0
12	PM005EA	5,1	0,039	0,059	0,569	0,725	0,863	0	0
13	PM002EA	5,2	0,019	0,058	0,712	0,942	0	0	0
14	PM006EA	5,1	0,059	0,588	0,706	0,961	0	0	0
15	PM021EA	5,1	0,059	0,608	0,745	0,961	0	0	0
16	PM003EA	5,1	0,039	0,059	0,725	0,961	0	0	0
17	PM017EA	5,2	0,058	0,077	0,596	0,731	0,962	0	0
18	PM023EA	5,1	0,059	0,745	0,961	0	0	0	0
19	PM007EA	5	0,06	0,64	0,76	0,96	0	0	0
20	PM018EA	5,1	0,059	0,49	0,647	0,961	0	0	0
21	PM022EA	5,1	0,059	0,471	0,627	0,961	0	0	0
22	PM004EA	4,9	0,061	0,673	0,98	0	0	0	0
23	PM014EA	4,7	0,064	0,702	0	0	0	0	0
24	PM008EA	4,8	0,063	0,646	0,979	0	0	0	0
25	PM012EA	4,9	0,041	0,653	0,959	0	0	0	0
26	PM016EA	4,8	0,021	0,646	0,958	0	0	0	0

Mapas de Fincas y Localidades



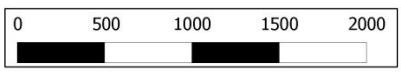
Localidades Estero de Caña y Los Machines

Leyenda
Localidades
Estero de Caña
Los Machines
Fincas
1. La Michela
5. Hugo Zarate
12. Don Felix
13. La Hilada
14. Don Fredy
26. Santa Gertrudis
27. La Jesussita
28. Don Oscar



Localidades Sol y Brisa y Máximo Guisasola

Leyenda
Localidades
Maximo Guisasola
Sol y Brisa
Fincas
17. Don Elvis
18. Don Augusto
20. Don Jobino
21. Don Francisco



Localidades Buena Vista y Recinto Santa Thomas

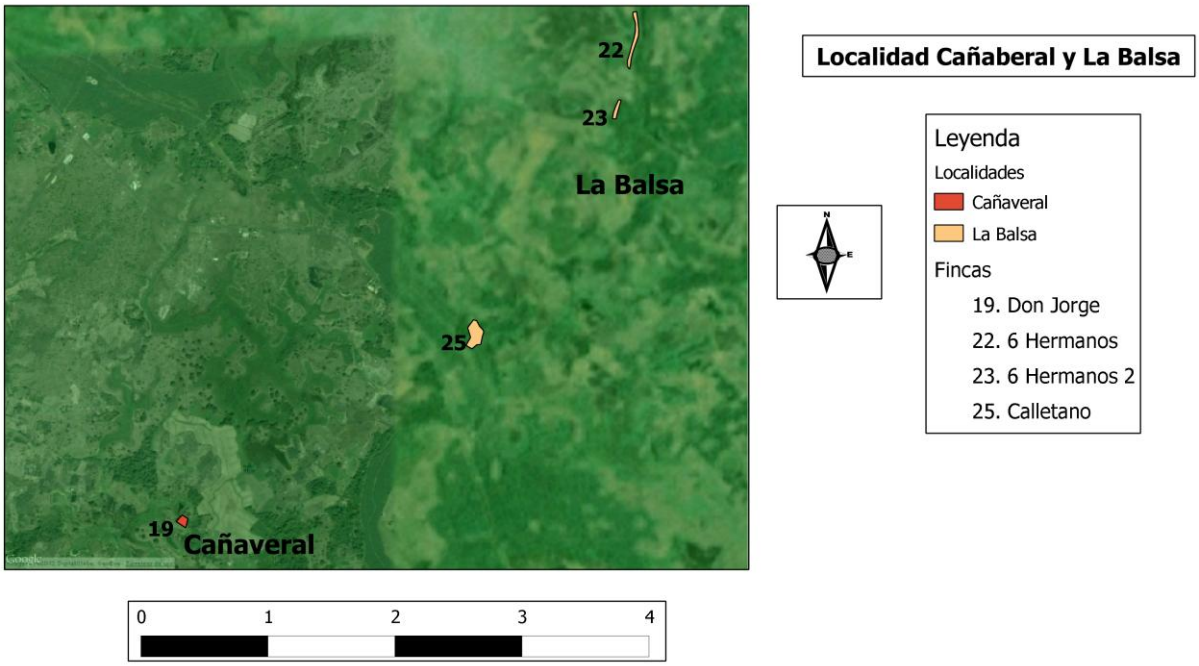
Leyenda
Localidades
Buena Vista
Recinto Santa Thomas
Fincas
2. 8 Hermanos
15. Don Manuel
16. La Noboa

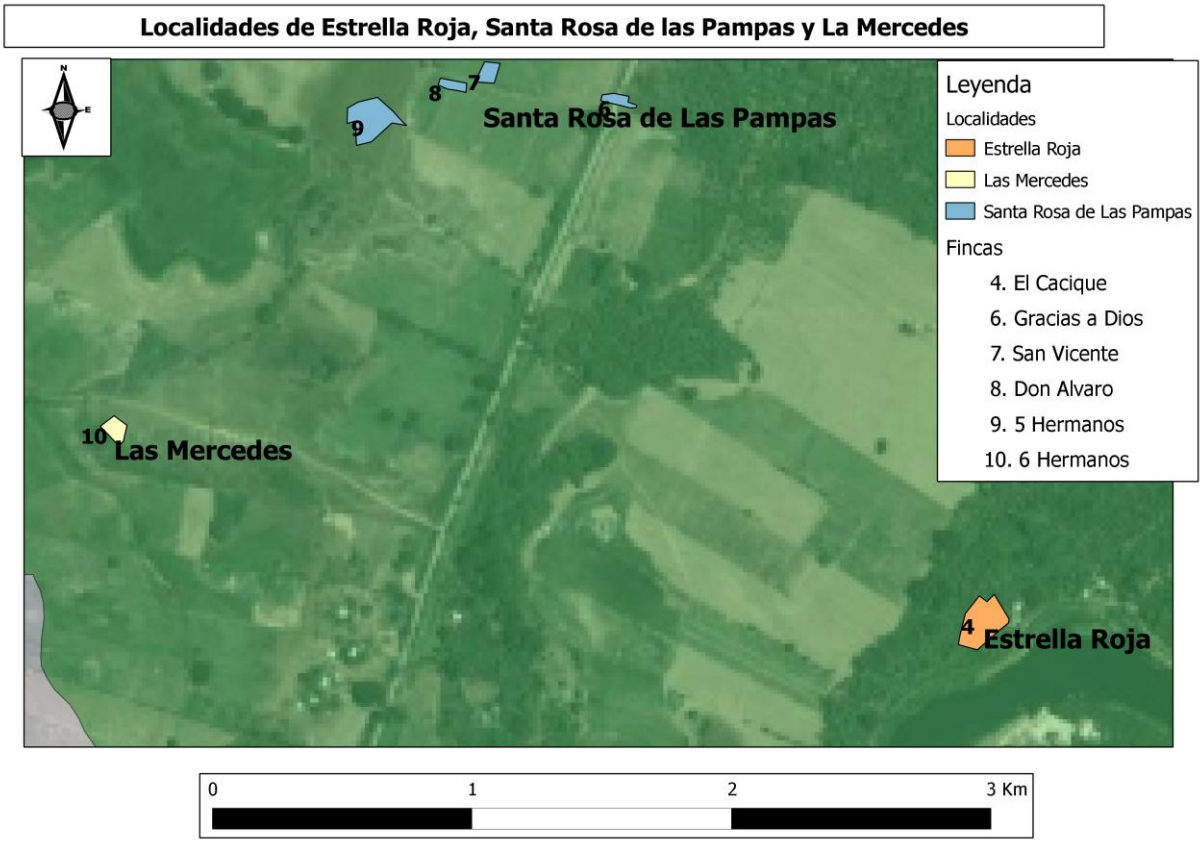
0 500 1000 1500 2000 m

Localidad La Reforma

Leyenda
1-28
La Reforma
Fincas
3. Carmita

0 400 800 1200 1600 3


Localidad Cañaberal y La Balsa
22
23
La Balsa
25
19
Cañaveral
Leyenda
Localidades
Cañaveral
La Balsa
Fincas
19. Don Jorge
22. 6 Hermanos
23. 6 Hermanos 2
25. Calletano
0
1
2
3
4


Localidades de Estrella Roja, Santa Rosa de las Pampas y La Mercedes
8
7
9
Santa Rosa de Las Pampas
10
Las Mercedes
4
Estrella Roja
Leyenda
Localidades
Estrella Roja
Las Mercedes
Santa Rosa de Las Pampas
Fincas
4. El Cacique
6. Gracias a Dios
7. San Vicente
8. Don Alvaro
9. 5 Hermanos
10. 6 Hermanos
0
1
2
3 Km

BIBLIOGRAFÍA

1. Schuh, R. *Plant Bug Inventory*. 2012 [citado 25 de Octubre 2012]; Taxonomia de M. dissimulatum. Available from: http://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Monalonion+dissimulatum&btxt=Plant+Bug+PBI&burl=http://research.amnh.org/pbi.
2. Rincon, S., *Control de plagas del cacao.* 1987: p. p. 35-38.
3. Silva, P., *Insects pests of cacao in the state of Bahia, Brazil.*, ed. T. Agriculture. 1944, Trinidad. p. 8-14.
4. Donis, J. and L. Saunders, *Plagas insectiles del cacao y sombra.*, in *Agroforesteria en las Américas*1997, CATIE: Turrialba, Costa Rica.
5. Salinas, G., *Biología y Ecología del chinche del cacao Monalonion dissmulatum DISTANT, 1883 (Hemiptera: Miridae) en la Región de Sapecho - Alto Beni*, 1997, Universidad Mayor de San Andrés.: La Paz, BO. p. 95 p.
6. CEIBO, *Manual del Cultivo del Cacao*, in *Manual del Cultivo del Cacao*. 1995.
7. ANECACAO. *Historia del cacao*. 2012; Available from: http://www.anecacao.com/index.php/es/cacao-en-ecuador/historia-del-cacao.html.
8. PRO-ECUADOR, *Análisis Sectorial de Cacao y Elaborados*, Ecuador, 2011
9. ICCO. *Fine or Flavour Cocoa*. 2011; Disponible en: http://www.icco.org/faq/53-cocoa-beans/116-fine-or-flavour-cocoa.html.

10. Engels, J.M.M., *The use of botanical descriptors for cocoa characterization: CATIE experiences. International workshop on conservation, characterization and utilisation of cocoa genetic resources in the 21st century.* The cocoa research Unit, 1992: p. 69-76.
11. Quiroz, J. and J. Soria, *Caracterización fenotípica del cacao Nacional de Ecuador.* Boletín Técnico, 1994. p. 74.
12. Lerceteau, E., et al., *Genetic differentiation among Ecuadorian Theobroma cacao L. accessions using DNA and morphological analyses.* Kluwer Academic Publishers, 1997. 95: p. 77-87.
13. Loor, R.G., et al., *Tracing the native ancestors of the modern Theobroma cacao L. population in Ecuador.* Tree Genetics & Genomes, 2009. 5: p. 421-433.
14. Amores, F., J. Jiménez, and G. Peña, *DIFERENCIACION DEL CACAO NACIONAL DEL ECUADOR Y FORASTERO DE GHANA MEDIANTE UN GRUPO DE COMPUESTOS VOLÁTILES CONSTITUYENTES DEL AROMA A CACAO.* INIAP, 2004.
15. Stern, J.G. *The History of CCN-51 in Ecuador*. 2011 September 13, 2011 [cited 2012; Available from: http://jeffreygstern.com/ecuadorian-cacao-varieties/the-history-of-ccn-51/.
16. Rosero, J.L., *LA VENTAJA COMPARATIVA DEL CACAO ECUATORIANO*, D.G.d. Estudios, Editor 2002.
17. PRO-EXPORT, *Cacao colombiano fino y de aroma*. Promoción de Turismo, Editor 2012: Colombia.

18. AllChocolate. *chocolate's flavor notes*. 2012; Available from: http://www.allchocolate.com/enjoying/intro_to_chocolate/chocolate_notes.aspx.
19. Guayaquil, R., *Ecuador tiene dos tipos de cacao*, in *El Comercio*2012: Ecuador.
20. Quingaísa, E. and H. Riveros, *ESTUDIO DE CASO: DENOMINACION DE ORIGEN "CACAO ARRIBA"*, FAO and IICA, Editors. 2007: Quito-Ecuador.
21. Enriquez, G.A., *Cacao Orgánico: Guía para productores ecuatorianos*. Segunda ed. Manual. 2010, Quito-Ecuador: INIAP.
22. Riveros, H., E. Vandecandelaere, and F. Tartanac, *Calidad de los alimentos vinculada al origen y las tradiciones en América Latina: Estudio de Casos*, C.A. Ruiz and G. Pancorbo, Editors. 2008, FAO-IICA: Lima-Perú.
23. BCE, *Evolución de la Balanza Comercial: Enero - Febrero 2012*, D.d.E. Económica, Editor 2012.
24. ESPAC, *Superficie Plantada de Cacao*, 2011, INEC.
25. ICCO. *Production of cocoa beans*. 2012.
26. Vicente, J. and C. Urrutia, *CADENA PRODUCTIVA DEL CACAO ARRIBA DEL ECUADOR*, 2011, Universidad Andina Simón Bolívar.
27. FAO, *Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas*, in *DOCUMENTOS DE LA FAO SOBRE PRODUCTOS BÁSICOS Y COMERCIO*2004, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN: Roma.
28. Schuh, R. *Plant Bug Inventory*. 2012 25-10-2012 [cited 2012 25 Octubre]; Overview Hemiptera]. Available from:

http://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Hemiptera&btxt=Plant+Bug+PBI&burl=http://research.amnh.org/pbi.

29. Lavabre, E.M., *Importance économique des mirides dans la cacaoculture mondiale.* G.P. Maisonneuve & Larose, 1977: p. 139-153.
30. Williams, G., *Field observation on the cocoa mirids Sahlbergella singullaris and DIstanella theobromae in the Gold Coast. Part 1.* Bulletin of Entomologiacal Research, 1953. 44: p. 101-119.
31. Coto, D.T. and J.L. Saunders, *Insectos plagas de cultivos perennes con énfais en frutales en América Central*. 2004: CATIE.
32. Flood, J., et al., *Cocoa Under Atack.* CABI- EDERACAFE, 2004: p. 33-53.
33. Villacorta, A., *ALGUNAS OBSERVACIONES SOBRE LA BIOLOGÍA DE MONALONION ANNULIPES1 SIG. EN COSTA RICA.* REVISTA PERUANA DE ENTOMOLOGÍA, 1972. 16(1): p. 18-20.
34. Padi, B., *Prospects for the control of cocoa Tropical Perennial Crops (Ed). , capsids - Alternatives to chemical control.* Science Publishers, 1997: p. 28-36.
35. Anikwe, J.C. and F.A. Okelana, *Evaluation of Field Damage and Chemical Control of Outbreak of Sahlbergella singularis Haglund in a Cocoa Plantation in Ibadan, Nigeria.* World Journal of Agricultural Sciences, 2009. 5: p. 190-194.
36. Ayenor, G.K., *Capsid Control for Organic Cocoa in Ghana: results of participatory learning and action research*, 2006, Tropical Resource Management Papers.

37. Asogwa, E.U., et al., *Prospects of botanical pesticides from neem, Azadirachta indica for routine protection of cocoa farms against the brown cocoa mirid – Sahlbergella singularis in Nigeria.* Journal of Medicinal Plants Research, 2010. 4: p. 1-6.
38. CABI. *cocoa capsid (Distantiella theobroma)* 2012 [cited 2012; Available from: http://www.plantwise.org/?dsid=19274&loadmodule=plantwisedatasheet&page=4270&site=234.
39. Villacorta, A., *Fluctuación anual en las poblaciones de Monalonion annulipes SIG. y su relación con la "MUERTE DESCENDENTE DE THEOBROMA CACAO" en Costa Rica.* REVISTA PERUANA DE ENTOMOLOGÍA, 1973. 16(1): p. 21-24.
40. MAES, J.-M., *INSECTOS ASOCIADOS A ALGUNOS CULTIVOS TROPICALES EN EL ATLANTICO DE NICARAGUA*, in *Rev. Nica. Ent*2004. p. 260pp.
41. Smith, E.S.C., *DESCRIPTIONS OF THE IMMATURE AND ADULT STAGES OF THE COCOA MIRID Helopeltis clavifaver (HETEROPTERA: MIRIDAE).* Pacific Insects, 1979. 20(4): p. 354-361.
42. TONG-KWEE, L., et al., *Studies on Beauveria bassiana isolated from the cocoa mirid , Helopeltis theobromae.* Butterworth & Co, 1989. 8: p. 358-362.
43. Muhamad, R. and M.J. Way, *Damage and crop loss relationships of Helopetis theivora, Hemiptera, Miridae and cocoa in Malaysia.* Crop Protection, 1995. 14(2): p. 117-121.

44. Moya, A., Á. Gómez, and G. Ramos, *La chinche amarilla del cacao*, A. Fitosanitarios, Editor 2005, INIA: Zulia-Venezuela.
45. Montealegre, J. and D.A. Rodriguez, *PATOGENICIDAD DEL HONGO Beauveria bassiana (BALS.) VUILL. SOBRE LA CHINCHE Monalion dissimulatum DISTANT PLAGA DEL CACAOTERO Theobroma*
46. *cacao L.*, in *Acta Agronomica*1989, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA): Tibaitará-Colombia.
47. Carballo, A.V.E.S.M., *Dinámica poblacional del chinche (Monalonion dissimulatum Dist.) y daño de mazorcas en plantaciones orgánicas de cacao del Alto Beni, Bolivia*, in *Agroforesteria en las Américas*2005, CATIE: Costa Rica. p. 92.
48. Renaud, O. and D. Estanga. *Insectos Plagas en Musaceas*. 2011.
49. Martins, F.J., *Estudo da viabilidade técnica da implantação de pomar de Cacau e Banana consorciados no município de Tucuma-PA*, UPIS, Editor 2005: Planaltina Distrito Federal - Brasil.
50. Paredes, J.R., *Situación Actual, Biología Y Manejo Ecológico Del Chinche Del Cacao (Monalonion Dissimulatum Distant).* 2011, Centro De Investigaciones Biotecnológicas Del Ecuador (CIBE): Guayaquil. p. 11.
51. Janny, G.M., B. Titchie, and J. Flood, *Discovery Learning About Cocoa: An inspirational guide for training facilitors*, CABI, Editor 2003, Bioscience: Bakeham Lane, Egham-UK.
52. Osorio, M.L. and A. Contreras, *El diagnóstico rural participativo y el manejo de los recursos naturales*, P. Agraria, Editor 2009: México.

53. FMB, *DIAGNÓSTICOS RURALES PARTICIPATIVOS. Una aproximación a la realidad campesina en seis comunidades.*, 2000, Fundación Moises Bertoni.
54. Johnson, R.R. and P.J. Kuby, *Elementary Statistics*. Vol. 11. 2011: Richard Stratton.
55. Painter, R.H., *Insect resistance in crop plants*. 1951, New York: Macmillan. 520.
56. Kogan, M. and E.F. Ortman, *Antixenosis - A New Term Proposed to Define Painter's "Nonpreference" Modality of Resistance.* Entomological Society of America, 1978. 24(2): p. pp. 175-176.
57. N'Guessan, K.F., J.A.K. N'Goran, and A.B. Eskes, *Resistance of cacao (Theobroma cacao L.) to Sahlbergella singularis (Hemiptera:Miridae): investigation of antixenosis, antibiosis and tolerance.* International Journal of Tropical Insect Science, 2008. 28(4): p. 201–210.
58. Panda, N. and S.G. Khush, *Host plant resistance to insects.* CABI, 1995: p. 448.
59. Smith, C.M., *Plant Resistance to Insects, a fundamental approach*. 1989, New York: John Willey.
60. Starks, K.J. and R. Muniappan, *Interaction between plant resistance and parasitism against the greenbug on barley and sorghum.* Entomological Society of America, 1972. 65: p. 650–655.
61. Salto, C.E., R.D. Eikenbary, and K.J. Starks, *Compatibility of Lysiphlebus testaceipes (Hymenoptera:Braconidae) with greenbug (Homoptera:*

Aphididae) biotype "C" and "E" reared on susceptible and resistant oat varieties. Environmental Entomology, 1983. 12: p. 603–604.

62. Rice, M.E. and G.E. Wilde, *Antibiosis effect of sorghum on the convergent lady beetle (Coleoptera:*
63. *Coccinellidae), a third-trophic level predator of the greenbug (Homoptera: Aphididae).* Journal of Economic Entomology, 1989. 82: p. 570–573.
64. Strauss, S.Y. and A.R. Sangerls, *Plant Insect Interactions in Terrestrial Ecosystems*, in *Plant Animal Interactions: An Evolutionary Approach*. 2002, Blackwell.
65. Rosenthal, J.P. and P.M. Kotanen, *Terrestrial plant tolerance to herbivory.* Trends in Ecology and Evolution, 1994. 9(4): p. 145-148.
66. Strauss, S.Y. and A.A. Agrawal, *The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory.* Trends in Ecology & Evolution, 1999. 14(5): p. 179-185.
67. Tiffin, P., *Mechanisms of tolerance to herbivore damage:what do we know?* Evolutionary Ecology, 2000. 14(4-6): p. 523-536(14).
68. Salamanca, U.d. *Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico*. 2011 [cited 2012; Available from: http://dicciomed.eusal.es/lexema/extrano-forastero.
69. Colombia, U.N.d. *RESISTENCIA DE PLANTAS A INSECTOS*. 2012 [cited 2012; Available from: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006631/lecciones/cap03/lec03b.html.

70. Emden, H.v., *Mechanisms of Resistance: Antixenosis, Antibiosis, Tolerance, Nutrition*, in *Encyclopedia of Pest Management*, D. Pimentel, Editor. 2002, Marcel Dekker.
71. Babin, R., et al., *Effects of cocoa tree phenology and canopy microclimate on the performance of the mirid bug Sahlbergella singularis.* Entomología Experimentalis et Applicata, 2011.