

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“Identificación de Insectos polinizadores del cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*), en la Finca Concepción, Municipio de Berlín, Departamento de Usulután.”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

ANA MIRIAM GONZÁLEZ PÉREZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, JULIO DE 2018.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“Identificación de Insectos polinizadores del cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*), en la Finca Concepción, Municipio de Berlín, Departamento de Usulután.”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESETADO POR:

ANA MIRIAM GONZÁLEZ PÉREZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

DOCENTE ASESOR:

MAESTRO RENÉ FUENTES MORÁN

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'René Fuentes Morán', is written over a horizontal line.

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, JULIO DE 2018.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“Identificación de Insectos polinizadores del cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*), en la Finca Concepción, Municipio de Berlín, Departamento de Usulután.”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

ANA MIRIAM GONZÁLEZ PÉREZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

JURADO CALIFICADOR:

MAESTRO RENÉ FUENTES MORÁN

Ms.D. MARTHA NOEMÍ MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

DRA. VIANNEY CASTAÑEDA DE ABREGO

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, JULIO DE 2018.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS

VICERRECTOR ACADÉMICO

DR. MANUEL DE JESÚS JOYA

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

ING. NELSON BERNABÉ GRANADOS

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO CRISTÓBAL RÍOS

FISCAL

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO

LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOVA

DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA

M. Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERÓN

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso y la Virgen María. Por darme la sabiduría y fortaleza para enfrentar los retos y los obstáculos que hubieron en el desarrollo de la carrera y del presente trabajo.

A mis padres: María de los Ángeles Pérez de González y Joaquín Alonso González, por darme ese apoyo incondicional en cada momento de mi vida, por darme las palabras de aliento que necesitaba para continuar con mis estudios, por enseñarme el valor de luchar, de salir adelante y a nunca desistir a pesar de las dificultades, por regalarme su confianza, amor y paciencia. Para ustedes es este logro.

A mis hermanos: Joaquín Alfredo González, Violeta de los Ángeles González, Alonso Alexander González y Olinda Yamileth González, Por estar ahí en los momentos que más los necesite, por su comprensión, apoyo económico e incondicional que en todo momento me brindaron. Gracias por estar en mis triunfos y fracasos.

El Señor es mi pastor: nada me falta; en verdes pastos él me hace reposar. A las aguas de descanso me conduce, y reconforta mi alma. Por el camino del bueno me dirige, por amor de su nombre.

Salmo 23; 1-3.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme concluir una etapa más en mi carrera profesional. La fe en ti fue lo que me mantuvo en pie hasta el final, gracias por tu profundo amor, porque me sostuviste de la mano en momentos de flaqueza y nunca me abandonaste.

A mis padres y hermanos quienes confiaron en mí para triunfar como profesional y siempre me estuvieron apoyando desde el principio hasta el final de toda mi carrera.

A mi madre María Pérez; hermana Olinda González y prima Mónica Castillo quienes fueron mi apoyo incondicional en los viajes de campo para poder realizar todos mis muestreos de la investigación.

A mi asesor Maestro René Fuentes, por haber aceptado ser el docente director del presente trabajo, por su ayuda invaluable, apoyo y guía brindada en mi carrera como bióloga y en el desarrollo de cada una de las fases de este trabajo.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por permitirme hacer uso de las instalaciones y brindarme todos los materiales que se utilizaron en la fase de laboratorio. A las personas que trabajan en CENSALUD; la Dra. Vianney Castañeda por el apoyo durante el desarrollo de la investigación y por aceptar ser mi jurado calificador y así brindarme sus valiosas observaciones para el mejoramiento del documento final; a la Lic. Karla Ayala por ayudarme para poder realizar las preparaciones permanentes para la posterior identificación de insectos; a la Lic. Gladis Quintanilla e Ing. Lizzette Hernández, por brindarme sus conocimientos en el área de cacao.

A Don Eduardo Zacapa y a su Familia, por poner a mi disponibilidad la Finca de cacao para poder realizar mis ensayos, aparte de apoyarme con ciertos gastos en la investigación

A la familia Domínguez por la amabilidad, atención y ayuda brindada durante el tiempo que acudí a la zona en la que se realizó la fase de campo.

Al Dr. Gustavo Spinelli, la Dra. Florentina Díaz y el Dr. Pablo Marino del Museo la Plata de Argentina quienes me brindaron sus conocimientos y apoyo desinteresado para poder identificar los especímenes colectados hasta especie, les estoy muy agradecida

A la Ms.D. Martha Noemí Martínez por aceptar ser mí jurado calificador y así brindarme sus valiosas observaciones para el mejoramiento del documento final.

A la Universidad de El Salvador, con énfasis en el cuerpo docente de la Escuela de Biología, quienes me formaron académicamente.

A mis amigos quienes de una u otra forma me escucharon y me brindaron palabras de aliento para seguir adelante y no decaer en mi carrera universitaria, gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	N° Pág.
ÍNDICE DE TABLAS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
I. RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. OBJETIVOS	3
2.1. General:	3
2.1. Específicos:	3
III. MARCO TEÓRICO.....	4
3.1. Antecedentes.	4
3.2. Descripción botánica.	5
3.2.1. Raíz:.....	6
3.2.2. Tallo y ramas:	6
3.2.3. Hojas:.....	6
3.2.4. Inflorescencia y flores:	6
3.2.5. Biología floral:.....	7
3.2.6. Fruto:	8
3.2.7. Semilla:.....	8
3.2.8. Compatibilidad sexual:.....	8
3.3. Clasificación del cacao.	9
3.3.1. Cacao criollo:.....	10
3.3.2. Cacao trinitario:	10
3.3.3. Cacao forastero:.....	10
3.3.4. Clasificación actual propuesta por Juan Carlos Motamayor (2008).....	10
3.4. Requerimientos climáticos para el cultivo de cacao.	11
3.4.1. Temperatura:.....	11
3.4.2. Precipitación:	11
3.4.3. Humedad relativa:.....	11
3.4.4. Viento:	11
3.4.5. Sombra:.....	12
3.5. Importancia y usos del cacao (<i>T. cacao L.</i>).....	12

3.6.	Importancia de la polinización.	12
3.7.	Valoración económica de los polinizadores entomófilos.	13
3.8.	Polinización en el cultivo de cacao.	14
3.9.	Insectos polinizadores del cacao.	15
3.10.	Factores que influyen en la abundancia de polinizadores.	16
IV.	METODOLOGIA	18
4.1.	Ubicación del área de estudio.	18
4.2.	Descripción del área de estudio.	18
4.3.	Características edafoclimáticas.	19
4.3.1.	Clima.	19
4.3.2.	Suelo.	19
4.4.	Diseño de Muestreo.	19
4.4.1.	Duración de la fase de campo.	19
4.4.2.	Parcelas.	19
4.4.3.	Selección de árboles.	20
4.4.4.	Horas de observación y captura.	20
4.4.5.	Captura de insectos.	21
4.4.6.	Registro de insectos.	22
4.4.7.	Identificación taxonómica de las especies recolectadas.	22
4.5.	Tipos de polinización.	22
4.5.1.	Polinización natural (Tratamiento 1):	22
4.5.2.	Polinización artificial (Tratamiento 2):	23
4.5.3.	Evaluación de tratamientos.	25
4.6.	Análisis de resultados.	26
4.7.	Análisis estadísticos.	26
4.7.1.	Estimador de Chao 1.	26
4.7.2.	Índice de Shannon-Wiener (H).	26
4.7.3.	Índice de Simpson (D).	27
4.7.4.	Prueba de t-Student.	28
4.8.	Evaluación económica mediante la productividad comparada entre la polinización natural y la artificial.	28
V.	RESULTADOS	29

5.1. Abundancia.....	29
5.2. Riqueza.....	31
5.3. Estimador de riqueza.....	34
5.4. Esfuerzo de muestreo.....	34
5.5. Diversidad de Especies.....	35
5.6. Presencia de insectos polinizadores observados en diferentes horas del día.....	35
5.7. Producción de cacao mediante la polinización natural y artificial.....	38
5.7.1. Frutos iniciales y frutos finales.....	38
5.8. Evaluación económica mediante la productividad comparada entre la polinización natural y la artificial.....	42
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	44
VII. CONCLUSIONES.....	48
VIII. RECOMENDACIONES.....	50
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
X. ANEXOS.....	

ÍNDICE DE TABLAS

N° Tabla.		N° pág.
1.	Especies de insectos polinizadores reportados en la Finca Concepción.	32
2.	Valores obtenidos del índice de Chao 1, Shannon-Wiener e índice de Simpson con el programa estadístico PAST, con los datos de insectos polinizadores de la Finca Concepción.	35
3.	Especies de insectos polinizadores reportados entre las horas de 6:00 a.m. a 11:30 a.m. y de 2:30 p.m. a 5:30 p.m.	37
4.	Resultados de frutos iniciales y finales en ambos tratamientos.....	38
5.	Resultados obtenidos de los frutos evaluados de los dos tratamientos.....	41
6.	Resultado de la prueba estadística t-Student, para las diferentes variables evaluadas con un nivel de significancia del 5%.	42
7.	Parámetros de productividad medidas mediante la polinización natural y artificial en el cultivo de cacao.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Nº Figura.		Nº Pág.
1.	Estructura floral de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>). Fuente: Somarriba et al. 2010.	7
2.	Partes del árbol de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>). a) Sistema radicular, observándose la raíz primaria y secundaria. b) Tallo y ramas. c) Muestra de hojas maduras y jóvenes. d) inflorescencia (cojinete floral). e) Frutos. f) semillas con mucilago.	9
3.	Esquema del recorrido del polinizador al interior de la flor de cacao y la forma de transportar los granos de polen. Fuente: Aranzazu et al. 2008.	15
4.	Mapa de la ubicación geográfica del área de estudio, dentro del Municipio de Berlín, Departamento de Usulután. Fuente: Google Earth 26 de julio 2016.	18
5.	Ubicación de las parcelas de muestreo en el cacaotal. a) Esquema representativo de las parcelas estudiadas. b) medición de las parcelas de cacao estudiadas.	20
6.	Métodos utilizados para la captura de insectos. a) Tubo succionador. b) Implementación del tubo succionador para la captura de insectos durante la investigación. c) implementación de la bolsa para la captura de insectos polinizadores.	21
7.	Identificación de los botones florales expuestos a la polinización natural. ..	23
8.	Imágenes del proceso que se llevó acabo para la realización de la polinización artificial. a) botón listo para ser aislado. b) aislamiento del botón. c) preparando la flor receptora para ser polinizada. d) polinización de la flor receptora. e) aislamiento de la flor ya polinizada para observarla después de 48 horas.	24

9.	Evaluación de los frutos cosechados. a) Peso del fruto. b) tamaño del fruto. c) corte longitudinal de fruto para hacer el conteo de semillas. d) Contabilización del número de semillas por fruto. e) medición del tamaño de la semilla.	25
10.	Representación gráfica en pastel de la abundancia relativa de las familias de insectos polinizadores capturados en el cacaotal de la Finca Concepción, Berlín.....	29
11.	Representación gráfica de la abundancia de insectos polinizadores encontrados en el área de estudio.....	30
12.	Representación gráfica de la abundancia encontrada por muestreo a partir de la frecuencia observada.....	31
13.	Representación gráfica del número de especies encontradas por muestreo a partir de la frecuencia observada.	33
14.	Representación gráfica del acumulativo de especies reportadas por cada muestreo.	33
15.	Curva de acumulación de especies por Muestreo en la Finca Concepción.....	34
16.	Riqueza y abundancia de especies capturadas según horarios de muestreo.	35
17.	Representación gráfica de las especies capturadas según los horarios de muestreo.	36
18.	Resultados de la polinización natural versus la artificial sobre el número de frutos iniciales y frutos finales de cacao.....	38
19.	Representación gráfica del peso promedio de los frutos evaluados por cada tratamiento.	39
20.	Representación gráfica del tamaño promedio de los frutos evaluados por cada tratamiento.	40

21.	Representación gráfica del número total de semillas de los frutos evaluados por cada tratamiento.....	40
------------	--	----

I. RESUMEN

Esta investigación se realizó durante la época de transición lluviosa-seca en la Finca Concepción ubicada en el Municipio de Berlín, Departamento de Usulután, con el fin de identificar los insectos que actúan como polinizadores en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) y su impacto en la producción. Se realizaron cinco muestreos entre los meses de octubre de 2016 a febrero de 2017, aplicándose dos métodos para la captura de insectos; el primero consistió en utilizar el tubo succionador y el segundo una bolsa plástica transparente. Además, se realizaron dos tratamientos para evaluar la importancia de la entomofauna polinizadora, los cuales fueron: la polinización natural (donde se señalaron las flores y se dejaron al aire libre) y la polinización artificial (donde se polinizaron manualmente las flores y se aislaron). Para cada tratamiento se seleccionó una parcela de 10m x 50 m, marcándose 9 árboles al azar, separada una de la otra por 50m.

Se capturaron 465 individuos pertenecientes a 17 especies, siendo *Dasyhelea scissurae*, *Dasyhelea sp*, y *Clinodiplosis sp*, las más abundantes y constantes en todos los muestreos. Con el índice de Chao1 se logró un nivel de inventario de 89.47% de especies capturadas. Con respecto a los índices de diversidad, Shannon-Wiener alcanzó un valor de 2.25 indicando una diversidad normal para la Finca según Moreno (2001), por otra parte, con el índice de Simpson se obtuvo un valor de 0.14 lo que nos indica un valor bajo en dominancia, pero alto en diversidad. Respecto a la evaluación de los tratamientos, se pudo observar bien marcadamente la diferencia entre la polinización natural y la polinización artificial, ya que la polinización natural presentó mayor rendimiento en todos los aspectos evaluados (frutos iniciales, frutos finales, tamaño, peso, número de semillas por fruto), de la misma manera al aplicar la prueba t-Student existió estadísticamente diferencias significativas para las variables evaluadas.

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*), es una planta perenne del orden Malvales de la familia Malvaceae, cultivada mayormente en los bosques húmedos tropicales. Por el valor económico y nutritivo que presenta es considerado de gran importancia para las zonas templadas (CATIE 1982), puesto que su semilla es utilizada para la fabricación de productos alimenticios, productos para cosmética y actualmente se está utilizando para la fabricación de productos medicinales (Pinzón *et al.* 2008).

El Salvador cuenta con un área de 446 hectáreas cultivadas de cacao, por lo que la producción que destina al mercado nacional es muy mínima, debido a esto y a la importancia histórica que presenta para el país, se está retomando este cultivo (Ángel 2012). Sin embargo es de valiosa importancia tener conocimiento de la entomofauna que se encuentra asociada al cultivo, por el proceso de polinización que realizan alguno de ellos, lo que ayuda a obtener una mejor producción (Enríquez 1987).

La polinización del cacao es básicamente entomófila, debido a que el polen es muy pegajoso y no se mueve fácilmente con el viento y la disposición de las estructuras florales no contribuye a facilitar la polinización a través de otros agentes naturales (INIAP 1993). Investigaciones han demostrado que los Dípteros de la familia Ceratopogonidae son los principales responsables de la polinización del cacao; entre los géneros más importantes están *Forcipomyia*, *Dasyhelea* y *Atrichopogon*, los cuales poseen las características morfológicas necesarias para realizar la polinización (Young 1983).

Los insectos realizan un importante trabajo en el proceso de polinización, ya que por medio de ellos se obtiene altos rendimientos en la producción de cacao, sin embargo El Salvador no cuenta con estudios previos que den a conocer las especies que están realizando la polinización en cacao. Por lo antes mencionado la investigación pretende identificar los insectos que actúan como agentes polinizadores en el cultivo de cacao, así como determinar la riqueza y abundancia de estos y finalmente comparar la productividad mediante la polinización natural y la polinización artificial, por medio de la obtención de los frutos (semillas). El conocimiento generado a partir de esta investigación, servirá de base para posteriores investigaciones.

II. OBJETIVOS

2.1. General:

- ✓ Estudiar los Insectos polinizadores del cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*), en la Finca Concepción, Municipio de Berlín, Departamento de Usulután.

2.1. Específicos:

- ✓ Identificar las especies de insectos que actúan como agentes polinizadores en el cultivo de cacao.
- ✓ Determinar la riqueza y abundancia de los insectos polinizadores de cacao.
- ✓ Comparar la productividad en el cultivo de cacao mediante dos tipos de polinización; la natural y la artificial.
- ✓ Valorar económicamente la polinización entomófila en la productividad de cacao.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes.

El Salvador no cuenta con estudios enfocados en la entomofauna polinizadora del cultivo de cacao (*T. cacao*), debido a que es un cultivo que recientemente se ha retomado en el país. Sin embargo, los otros países de la región tropical, han venido realizando investigaciones desde hace décadas, un ejemplo de ello es el trabajo realizado por Hardy (1961), quien elaboró un apartado en el Manual de Cacao, sobre la polinización, donde menciona la dificultad de comprender el mecanismo de la polinización del cacao, ya que la estructura de la flor no permite que los insectos más conocidos la efectúen, por lo que señala a unos pequeños dípteros pertenecientes a la familia de los Ceratopogonidos del género *Forcipomyia*, por presentar una forma alada.

De la Cruz & Soria (1973), realizaron un estudio de las fluctuaciones de polinización del cacao por las mosquitas *Forcipomyia* spp. (Díptera, Ceratopogonidae), en Palmira, Valle Colombia, donde reportaron un total de 55 dípteros del género *Forcipomyia*, *Artrichopogon*, *Dasyhelea*, y *Stylobezzia*, que se encontraron reposando en las flores colectadas. Así también señalaron que la polinización, floración, producción y precipitación fluctuaron marcadamente a lo largo del año. Concluyeron que la polinización depende directamente de la floración y de la lluvia, y que la ocurrencia cronológica de la floración podría ayudar a programar las prácticas agrícolas principalmente aquellas fitosanitarias que podrían afectar a las especies polinizadoras.

Por otra parte, es importante destacar los estudios realizados por Young (1982, 1983, & 1986), basados en diferentes métodos (hojas en descomposición, cascaras de mazorcas, bromelias simuladas y dispersión de pseudotallos de musáceas) para aumentar las poblaciones de insectos polinizadores del cacao, y así la polinización y el cuajado de los frutos. Entre estos métodos el que obtuvo mayor resultado fue la distribución de pseudotallos de musáceas (cortados en rodajas) ya que produjo mayor número de dípteros polinizadores. No obstante, si las plantaciones de cacao presentan mayor cantidad de plantas de dosel, más densas en sombra, impidiendo la entrada de luz, ocasionan una disminución en la floración del cacao, lo

que desalienta el crecimiento poblacional de insectos polinizadores y su actividad en la polinización.

Conforme ha pasado el tiempo así también avanzan las investigaciones sobre los insectos polinizadores del cultivo de cacao, Mavisoy *et al.* (2009), en su trabajo de grado efectuaron una evaluación de la abundancia de Ceratopogonidos (Díptera) polinizadores de cacao (*Theobroma cacao L.*) en la hojarasca de 7 árboles de sombra, obteniendo como resultado un total de 2260 adulto y 1702 larvas de Ceratopogonidos, demostrando estos resultados que las poblaciones de insectos polinizadores del cacao que emergen de los sustratos evaluados son relativamente bajos. Por otra parte, Guevara (2010), en su trabajo de grado, sobre los insectos polinizadores de cacao, reportó un total de 17042 insectos capturados en las flores y cojines florales de cacao, encontrándose en mayor cantidad los insectos correspondientes a la familia Aphididae con una representación de 81% de los insectos capturados, seguido de la familia Formicidae con 7%, mientras que la familia Ceratopogonidae apenas representó el 1% del total de los insectos capturados.

Córdoba *et al.* (2013), evaluaron la relación de las características de coberturas de suelo y de dosel de los sistemas agroforestales de cacao con las poblaciones de los géneros *Forcipomyia*, *Dasyhelea* y *Atrichopogon*, y la relación de estos con la producción potencial de cacao, obteniéndose como resultado que las relaciones entre los polinizadores y las características de los agroecosistemas de cacao fueron significativas para los totales de polinizadores, y que en condiciones de 72-90% de la cobertura de sombra solo se cosecha un 30% de los frutos que inicialmente se forman; los demás se pierden por aborto de frutos o por ataques de plagas y enfermedades.

3.2. Descripción botánica.

En el reino vegetal el cacao se clasifica dentro de la Clase Dicotiledóneas, Orden Malvales, Familia Malvaceae, género *Theobroma* y especie *cacao*, cuya denominación científica es *Theobroma cacao L.* (Dubón & Sánchez 2016), es un cultivo perenne que alcanza entre los 6 a 8 m de altura, dependiendo en parte de los factores ambientales del crecimiento ya que si es cultivado bajo sol el tamaño se reduce (Hardy 1961).

3.2.1. Raíz:

El sistema radicular del cacao está compuesto por dos tipos de raíces: una raíz principal que normalmente penetra a mayor profundidad y su principal función es dar anclaje y sostén a la planta; y las raíces secundarias que se encuentran desde la superficie del suelo hasta 30cm de profundidad, a partir de las cuales se desprenden una serie de raicillas más finas y muy activas, que son utilizadas por las plantas para absorber nutrientes y agua (Dubón & Sánchez 2016), necesarios para realizar sus procesos fisiológicos (figura 2a).

3.2.2. Tallo y ramas:

Las plantas reproducidas por semillas desarrollan un tallo de crecimiento vertical (figura 2b), que pueden alcanzar de 1 a 2 metros de altura a la edad de 12 a 18 meses (Batista 2009). Presenta ramas dimórficas ya que unas crecen verticalmente hacia arriba (ortotrópicas) y otras horizontalmente (plagiotrópicas) hacia afuera (Hardy 1961).

3.2.3. Hojas:

El cacao presenta hojas simples, enteras, de formas lanceoladas a casi ovaladas, con margen entero, nervaduras pinnadas y ambas superficies glabras (figura 2c). El nervio central es prominente y el ápice es agudo, están unidas al tronco y a las ramas por medio de los peciolos. Las hojas tienen pulvino que le dan orientación mediante movimientos de rotación, buscando posición en relación a su necesidad de luz (Batista 2009).

3.2.4. Inflorescencia y flores:

Las inflorescencias conocidas también como cojines aparecen solo en el tronco y ramas principales, fenómeno llamado cauliflora; ocupan posiciones axilares a las hojas (León 1987). Las flores individuales son hermafroditas, pentámeras de ovario súpero, constituidas por cinco sépalos y cinco pétalos (compuestos por el limbo y la cogulla). El androceo formado por diez estambres de los cuales cinco son fértiles y cinco infértiles (estaminodio); el gineceo conocido también como pistilo está formado por un ovario súpero con cinco lóculos fusionados desde la base donde cada uno puede contener de cinco a quince óvulos, dependiendo del genotipo (figura 1) (Batista 2009).

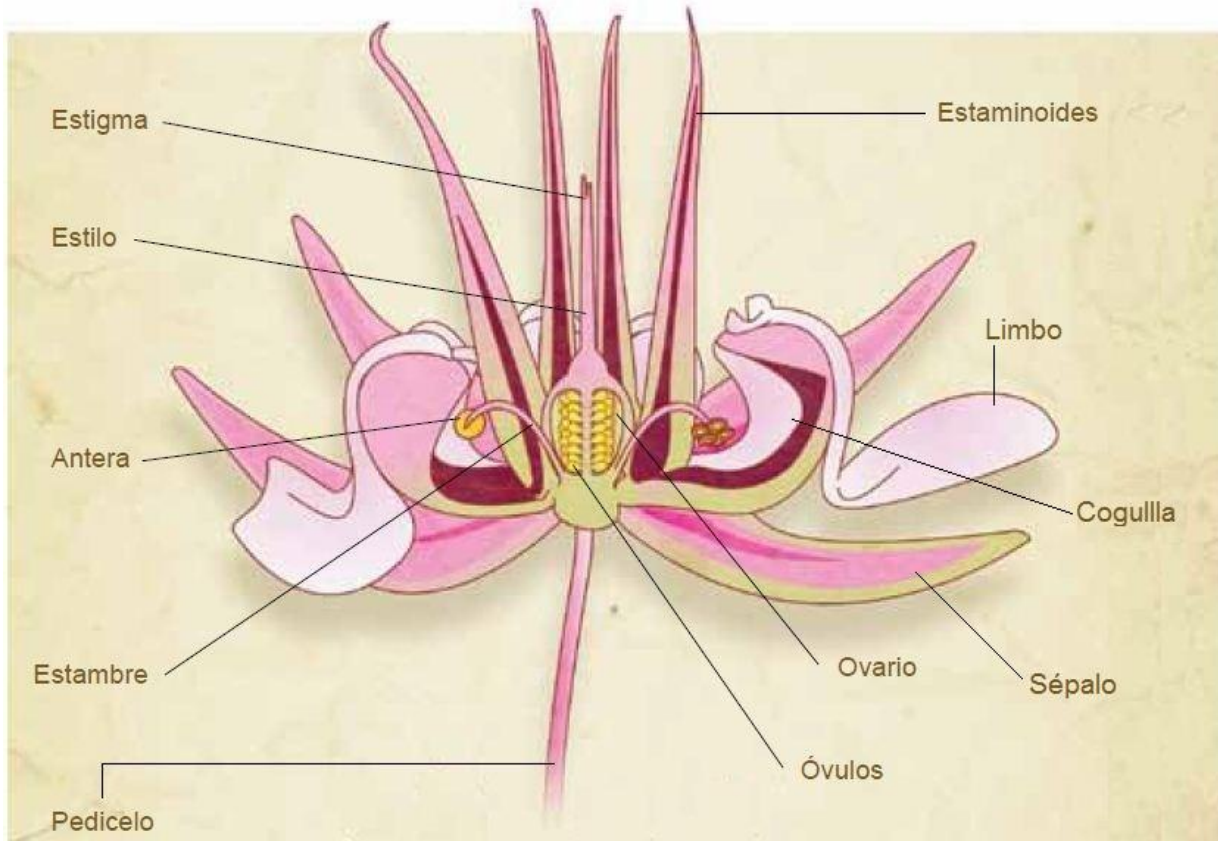


Figura 1. Estructura floral de cacao (*Theobroma cacao* L.). Fuente: Somarriba *et al.* 2010.

3.2.5. Biología floral:

Las flores de cacao se agrupan en inflorescencias conocidas como cima dicasiforme, comúnmente llamada cojín o cojinete floral (figura 2d) (INIAP 1993), que se encuentran localizados alrededor del punto de inserción de las hojas, tanto en el tronco como en las ramas (Enríquez 1985). El cacao es una planta cauliflora, esto significa que las flores se producen en los tejidos adultos del tronco y de las ramas (INIAP 1993).

Los primordios florales nacen endógenamente del floema. El periodo desde el momento en que emerge el botón floral, por sobre la corteza, hasta la apertura de la flor, es de aproximadamente 30 días y este fenómeno está altamente influido por el ambiente reinante (Enríquez 1985), pero de no ser fecundada, la flor cae después de tres días de su apertura, mediante un estrangulamiento en la zona de abscisión del pedúnculo. El número de flores por cojín fluctúa de acuerdo a la variedad, un solo cojinete puede llegar a tener hasta 40 y 60

flores; el número de ellas por cojín en diferentes arboles ha sido atribuido a factores hereditarios (INIAP 1993). Sin mencionar que algunas variedades tienen las flores bien concentradas mayormente en el tronco, mientras que otras tienen una mayor concentración en las ramas laterales (Enríquez 1985).

3.2.6. Fruto:

Es una baya de gran tamaño, usualmente conocida y llamada "mazorca" (figura 2e), con color y forma variada, su corteza es dura, generalmente alargada, ovalada o amelonada, de color amarillo, verde, rojo o púrpura, de 15 a 30 cm de largo por 7 a 10 cm de ancho, superficie lisa o rugosa con comisuras longitudinales, cada mazorca contiene entre 30 y 40 semillas dispuestas en placentación axial y cubiertas de una pulpa desarrollada de las capas externas de la testa (CONABIO 2008).

3.2.7. Semilla:

Presenta forma y tamaño variado de coloración purpura, de 2 a 3 cm de largo y tiene un sabor amargo, esta se encuentra recubierta con una pulpa de color blanco y de sabor dulce y acidulado (figura 2f). Todo el volumen de la semilla es ocupado por los 2 cotiledones del embrión (CONABIO 2008).

3.2.8 Compatibilidad sexual:

La compatibilidad sexual es la capacidad de fecundación de una flor receptora (madre) al entrar en contacto con el donador de polen (padre). La compatibilidad puede presentarse de dos formas, como autocompatibilidad, cuando las flores de una planta son debidamente polinizadas con el polen de ella misma o con polen de una flor de la misma planta; y la compatibilidad cruzada que se da cuando las flores de una planta son fecundadas con polen de otra planta (Quinaluisa 2010).

La incompatibilidad sexual es un fenómeno genético, regido por un proceso bioquímico en el momento de reconocimiento, aceptación o rechazo del polen, lo cual se produce en el tubo polínico de las flores receptoras y en algunos casos en el estigma. Se puede presentar de dos

formas, siendo una de ellas la autoincompatibilidad, por la cual las flores de una misma planta no pueden fertilizar sus propios óvulos, aunque la polinización haya sido realizada y, la otra es la incompatibilidad cruzada por la cual algunas plantas no pueden cruzarse con otras. Por consiguiente, una planta puede estar en ambos grupos o puede ser autoincompatible, pero compatible con otras (Quinaluisa 2010).

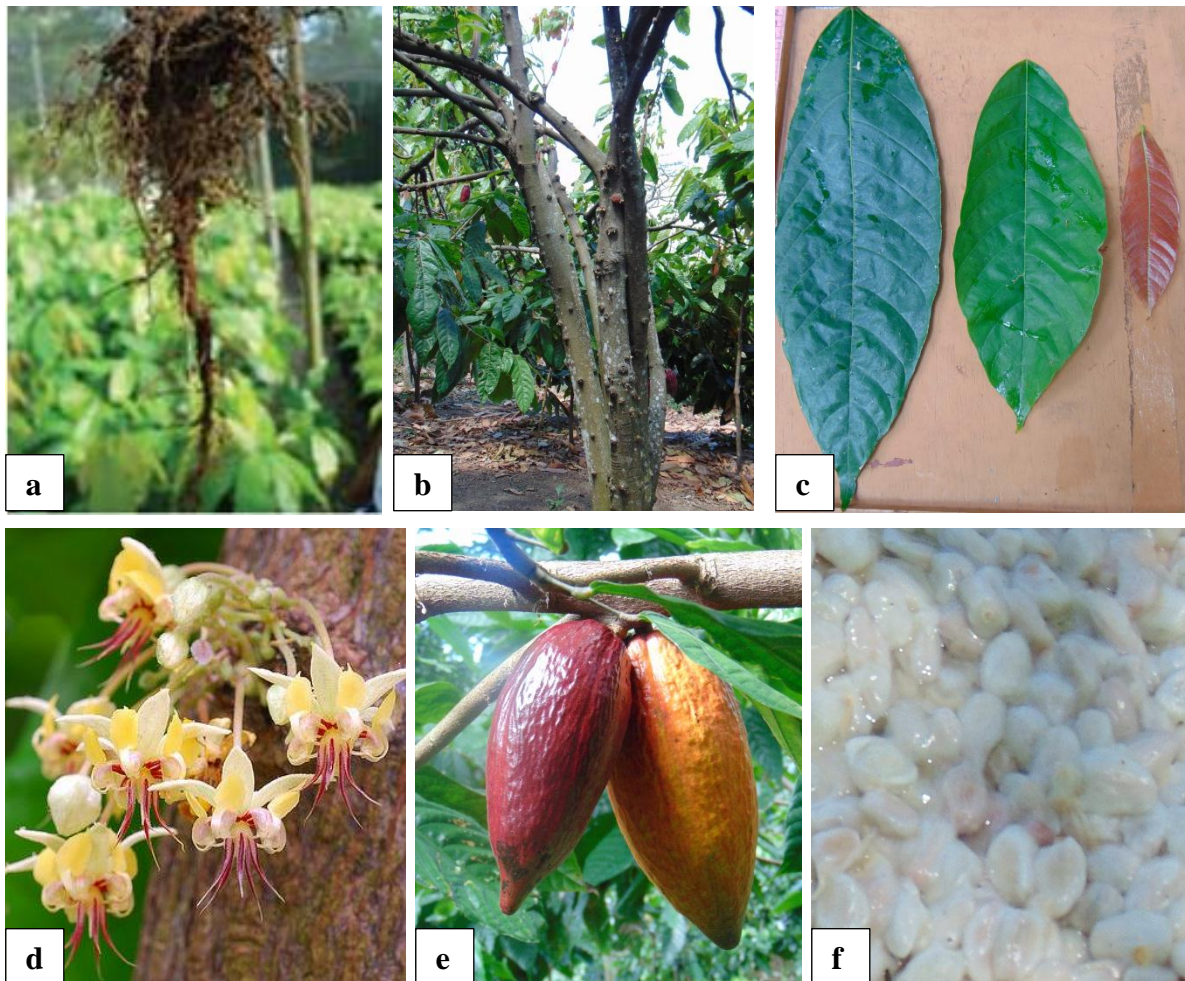


Figura 2. Partes del árbol de cacao (*Theobroma cacao* L.). a) Sistema radicular, observándose la raíz primaria y secundaria. b) Tallo y ramas. c) Muestra de hojas maduras y jóvenes. d) inflorescencia (cojinete floral). e) Frutos. f) semillas con mucilago.

3.3. Clasificación del cacao.

Según Reyes & Capriles (2000), esta planta tropical, presenta una variedad muy grande en cuanto a color, dimensiones y formas de las diferentes partes de la flor, frutos y semillas. Por lo que han llegado a clasificarlos en 3 grandes grupos:

3.3.1. Cacao criollo:

Presentan mazorcas de color roja o verde antes de la madurez o de combinaciones de rojo y de rosado a amarillo. Tienen forma alargada, con una punta muy acentuada en el extremo inferior, con la superficie marcada por diez surcos muy profundos. El pericarpio es muy rugoso, delgado y muy fácil de cortar, el mesocarpio es delgado, pero lignificado, los granos son redondeados con cotiledones de color blanco. Estos cacaos son clasificados como criollos andinos, criollos porcelana y criollo pentágono.

3.3.2. Cacao trinitario:

Son plantas híbridas originalmente formadas a partir de cruces de criollo y forastero, produciéndose así un cacao de alta calidad, con aroma y sabor muy pronunciados. La hibridación se dio de manera espontánea, en la isla antillana de Trinidad donde el criollo que fue llevado en un principio se cruzó con el forastero, dando origen a un tipo intermedio que, si bien fue catalogado como forastero, su calidad resulto superior a este (Pinzón *et al.* 2008).

3.3.3. Cacao forastero:

Es el más cultivado, con el 80% de producción a nivel mundial. Además, a sus características de vigor, precocidad y productividad, también presentan resistencia a enfermedades y virus, razón por la que son muy valorados para obtener materiales híbridos (Reyes & Capriles 2000). El árbol suele ser vigoroso, con tendencia a ramificar lateralmente y en algunos casos su follaje decumbente, el fruto tiende a ser de apariencia amelonada, predominante liso, con surcos poco pronunciados y con poca rugosidad. El grano suele ser más pequeño que el del cacao criollo con una coloración violeta oscuro, de mucilago ácido (Pinzón *et al.* 2008).

3.3.4. Clasificación actual propuesta por Juan Carlos Motamayor (2008).

Motamayor y colaboradores (2008), utilizando marcadores moleculares (microsatélites) en más de 1200 accesiones para determinar la diversidad genética del cacao, proponen una nueva clasificación del germoplasma del cacao en 10 grupos representativos: Marañón, Curaray, Criollo, Iquitos, Nanay, Contamara, Amelonado, Purús, Nacional y Guiana, clasificación propuesta en remplazo de los tres grupos que se conocían (Forastero, Trinitario y Criollo).

Estos 10 grupos considerados por el autor como los más representativos, se le asignan nombre de acuerdo a su representación geográfica o por el sitio donde tradicionalmente han sido cultivados. Esta nueva clasificación refleja más acertadamente la gran diversidad genética, gracias a los avances tecnológicos ahora disponibles para los investigadores, por esta razón los autores proponen usar esta nueva clasificación con el propósito de conservar, manejar y explorar los recursos genéticos del cacao (Dubón & Sánchez 2016).

3.4. Requerimientos climáticos para el cultivo de cacao.

3.4.1. Temperatura:

Es un factor de importancia fundamental para el crecimiento normal del árbol (Suarez *et al.* 1993). La temperatura medio anual debe oscilar entre los 21 y 25 °C, mientras que la diferencia entre la temperatura mínima y máxima no debe variar los 9°C, ya que esta diferencia afectaría drásticamente a los procesos de floración fructificación y tiempo de maduración del cacao (DGIEA-MAG 1991).

3.4.2. Precipitación:

Los rangos óptimos para el desarrollo del cultivo deben oscilar entre 1.500 a 2.500 mm anuales, pero requiere precipitación mensual de unos 100 mm (DGIEA-MAG 1991).

3.4.3. Humedad relativa:

El rango promedio mensual más conveniente para el cultivo de cacao anda entre los 75-80%, ya que a mayores porcentajes se produce la proliferación de enfermedades fungosas (INIAP 1993).

3.4.4. Viento:

Es un factor que perjudica la planta de caco, cuando alcanza velocidades superiores de 14 km/hora. En las áreas cacaoteras donde los vientos alcanzan velocidades considerables, se debe establecer cortinas rompavientos (DGIEA-MAG 1991).

3.4.5. Sombra:

El cacao (*T. cacao*) es un cultivo típicamente umbrófilo, es decir, requiere de la protección de otras plantas que le proporcionen sombra para su normal desarrollo y producción. Los requisitos de sombra son mayores en los primeros cuatro años, cuando los árboles no presentan autosombreamiento (Sánchez & Dubón 1994). La principal función de los árboles de sombra es regular los factores ecológicos desfavorables tales como baja fertilidad del suelo, daños por vientos y alta transpiración que lleva a una tensión por agua (Jiménez 1980).

3.5. Importancia y usos del cacao (*T. cacao* L.).

La importancia del cacao reside en la semilla, materia prima utilizado para la fabricación del chocolate, alimento más completo por su poder energético, sus aportes en minerales, vitaminas, fibras y sustancias estimulantes. Es preciso indicar que el cacao tiene otros usos en la industria especialmente en productos de cosmética y farmacéuticos (Kalvatchev *et al.* 1998).

Estudios científicos han determinado que el chocolate no solamente es utilizado para deleitar el paladar, sino que tienen grandes propiedades para la salud, pues sus derivados (grasas, aminas y alcaloides incluyendo teobromina, cafeína, tiramina, dopamina, salsolinol, trigonelina, ácido nicotínico y aminoácidos libres; taninos, fosfolípidos, triglicéridos de ácidos grasos consistentes de ácidos oleico, etc.) tienen la peculiaridad de ayudar en la prevención de enfermedades cardíacas y el cáncer. En efecto el chocolate tiene polifenol, compuesto que impide la oxidación del colesterol LDL (malo), que bloquea las arterias (Aranzazu *et al.* 2008).

3.6. Importancia de la polinización.

La polinización es un proceso fundamental, tanto para los ecosistemas naturales como para los agroecosistemas. Este servicio resulta de suma importancia en la producción de alimentos y los medios de vida de los seres humanos, ya que relaciona directamente los ecosistemas silvestres con los sistemas de producción agrícola (APOLO 2012). Gran parte de las especies

de plantas fanerógamas sólo producen semillas cuando los animales polinizadores han trasladado previamente el polen de las anteras a los estigmas de sus flores (FAO 2008).

La diversidad de los polinizadores y los sistemas de polinización es extraordinaria. Debido a que la mayor parte de especies de abejas son polinizadores eficaces junto con los lepidópteros, dípteros y coleópteros, para la mayoría de las plantas. Los cultivos tropicales, en particular el cacao, dependen en gran medida de los polinizadores pues el 90% de las cosechas requieren que la polinización se realice adecuadamente (FAO 2008).

3.7. Valoración económica de los polinizadores entomófilos.

El ser humano obtiene beneficios de los insectos de muchas formas, sin ellos nuestra sociedad y entorno sería muy diferente, ya que el beneficio de polinización que prestan nos permite obtener una gran cantidad de frutas, verduras y semillas que son necesarias para la alimentación diaria del ser humano. Entre los muchos argumentos que demuestran la importancia de los insectos polinizadores, para los cultivos, se encuentra el del beneficio económico. Debido a que la producción y la calidad de los cultivos dependen de la polinización, por lo que una mayor o menor polinización afectaría al valor económico total del cultivo (GREENPEACE 2014).

En una evaluación sobre los servicios que brindan los polinizadores estimaron, que el valor económico mundial de los insectos polinizadores en el año del 2005, fue de 153,000 millones de euros, lo que representaba el 9.7% del valor de la producción mundial agrícola utilizada para la alimentación del ser humano (APOLO 2012).

También se encontraron con que el valor (por tonelada) de aquellos cultivos que no dependen de la polinización por insectos era, como promedio, cinco veces inferior al de aquellos cultivos dependientes de polinizadores (APOLO 2012).

Sin embargo, desde hace años las poblaciones de polinizadores están sufriendo una reducción importante, puesto que son muchas las amenazas a las que se enfrentan entre las cuales se pueden mencionar, el cambio climático, pérdida y deterioración de hábitats, práctica de la agricultura industrial (plaguicidas), etc. Algunas de las soluciones para frenar el declive de los

polinizadores implican inversiones a largo plazo, pero la prohibición de los plaguicidas tóxicos puede, y debe, ser inmediata (Ferreirim 2013).

3.8. Polinización en el cultivo de cacao.

La polinización en el cultivo de cacao, es un proceso fundamental para la producción de frutos (comúnmente llamados mazorcas), y el rendimiento producido por el cacao está determinado por la acción de varios factores: condiciones climáticas, genéticas, árboles que lo rodean, enfermedades, plagas y agentes polinizadores (Young 1982).

Peña (2003), detalla la polinización como la transferencia de polen viable desde las anteras (órgano masculino de la flor) al estigma (órgano femenino) de la misma flor o de una flor diferente. Después de la polinización viene la fertilización, mediante la cual el grano de polen germina en el estigma y establece contacto con el óvulo. En algunas especies la transferencia del polen depende en parte o totalmente de la acción de vectores como bióticos (aves, insectos, murciélago etc.) y abióticos (viento, agua). En el caso del cacao, este proceso toma alrededor de seis meses desde el momento de la polinización hasta la obtención de frutos de suficiente tamaño para ser recolectado, presumiendo que no haya habido interrupciones en el curso natural del desarrollo (Young 1982).

La transferencia del polen es muy delicada, porque la flor parece estar diseñada por naturaleza para obstruir la polinización, no para favorecerla. Pues las partes de la flor impiden que los insectos conocidos comúnmente como polinizadores alcancen el polen que se encuentra en los cinco grupos de anteras cubiertas con la cogulla que tiene la flor (figura 3), por lo que es realizada por un grupo de Dípteros que presentan las características adecuadas (Young 1982). El polen de estas flores permanece viable durante tres días. Las flores están receptivas durante las primeras horas de la mañana y estas comienzan a abrirse gradualmente por la tarde continuando por la noche hasta quedar completamente abierta justo antes del amanecer. Sin embargo una porción muy grande de estas flores no son polinizadas y caen al cabo de 48 horas (CONABIO 2008).

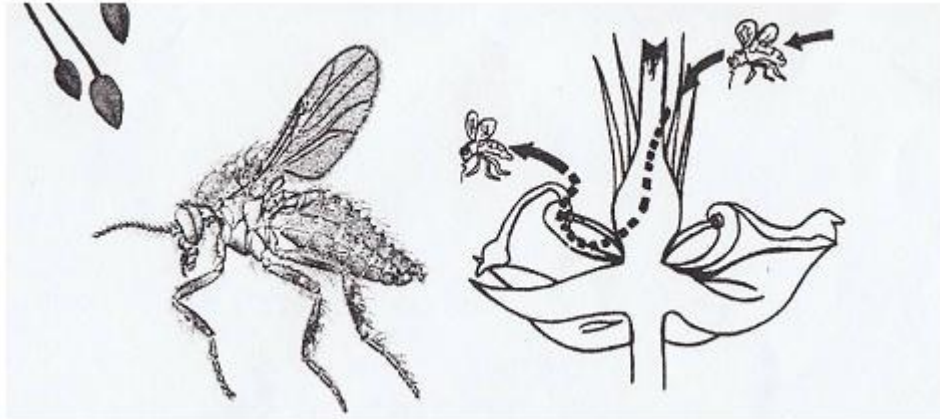


Figura 3. Esquema del recorrido del polinizador al interior de la flor de cacao y la forma de transportar los granos de polen. Fuente: Aranzazu *et al.* 2008.

3.9. Insectos polinizadores del cacao.

La polinización del cacao es básicamente entomófila, el tamaño y la disposición de las estructuras florales del cacao no contribuyen a facilitar la polinización a través de otros agentes naturales. Además, el polen es muy pegajoso y los órganos reproductivos están separados entre sí por una doble barrera física; las anteras están alojadas en el interior de las "cogullas" de los pétalos y el estigma está protegido por un cerco que forman los estaminoides. Todo esto dificulta el proceso de la autopolinización y aún más la polinización cruzada (INIAP 1993).

Los estudios realizados por Palíz *et al.* (1982), señalan que entre los insectos polinizadores del cacao, se han encontrado áfidos o pulgones (Hemiptera: Aphididae), de las especies *Aphis gossypii* y *Toxoptera aurantii*; trips (Thysanoptera: Thripidae), de las especies *Heliothrips haemorrhoidalis* y *Selenothrips rubrocinctus*; hormigas (Hymenoptera: Formicidae), de las especies *Brachymyrmex heeri* y *Solenopsis molesta*, y pequeñas mosquitas (Díptera: Ceratopogonidae), de los géneros *Forcipomyia*, *Dasyhelea*, y *Atrichopogon*, siendo estas las que presentan mayor eficacia en la polinización del cacao.

Sin embargo, los insectos del género *Forcipomyia* son calificados como los principales agentes polinizadores del cacao, dentro de éste, se ha encontrado que las especies de *F. eurojoannisia*, *F. squamipennis*, *F. ashantii*, y *F. castanea*, son las más efectivas, pues

exhiben hábitos eficientes y estructuras adaptadas para tal fin, al contrario de otros insectos Ceratopogónidos (Brew 1984).

Varios estudios han demostrado que del género *Forcipomyia* solo las hembras son las encargadas de realizar la polinización en las flores del cacao (De la Cruz y Soria 1973). No obstante, el género, *Atrichopogon*, también figura como uno de los polinizadores más eficaces en el cultivo, pero a diferencia de *Forcipomyia*, presenta una destreza en la cual tanto los machos como las hembras visitan las flores por carbohidratos y las hembras perforan los granos de polen en busca de proteína (Young 1983).

En el caso del género *Forcipomyia*, su población es más abundante en temporada de lluvia, y tienen la tendencia de formar colonias en las cáscaras de cacao y hojarasca. Por esta razón, es clave mantener y aumentar los sitios de crianza de este mosquito, para así, estimular una mayor acción polinizadora. Un ejemplo de esto, es dejar las cáscaras de cacao regadas uniformemente a lo largo de la plantación (INIAP, 1993).

3.10. Factores que influyen en la abundancia de polinizadores.

Los sistemas agroforestales de cacao requieren de sombra, puesto que es un elemento clave para el cultivo, especialmente en las plantaciones tradicionales que tienen variedades de cacao, en este ambiente, la cantidad, tipo y diversidad de especies forestales para la sombra son importantes ya que la falta o carencia de la misma disminuye las poblaciones de polinizadores que afecta directamente el desempeño del cultivo (Ríos *et al.* 1997).

Las condiciones más óptimas para una buena floración se presentan en zonas que tienen precipitaciones superiores a los 80 milímetros por mes y temperatura alrededor de 28°C. En las zonas de producción de cacao en la región Amazónica, la precipitación no es limitante porque llueve casi todo el año, pero la temperatura en sistemas agroforestales puede ser una variable clave ya que bajo el dosel esta puede ser menor a la temperatura ambiente. Por otro lado, una mayor densidad de árboles de cacao hace que haya una mayor cantidad de flores que atraen a los insectos polinizadores (Kaufmann 1975).

La presencia de hojarasca y materia vegetal en descomposición presentan una relación positiva con la abundancia de Dípteros, por lo tanto, una cobertura de este tipo en el suelo de una

plantación de cacao sirve de hábitat para la reproducción de insectos polinizadores (INIAP, 1993). Debido a que la hojarasca con suficiente humedad les proporciona las condiciones adecuadas para realizar esta actividad. Estudios realizados por Winder (1977), también encontraron relación positiva entre la humedad del suelo y la abundancia de polinizadores, encontrando que las mayores poblaciones de insectos polinizadores de la familia Ceratopogonidae estaban correlacionadas con mayor humedad del suelo y las menores poblaciones con la menor humedad del suelo.

Por otro lado Young (1982), menciona que los insectos polinizadores son relativamente escasos en las plantaciones de cacao que han sido simplificadas en su estructura, de sistemas agroforestales a sistemas intensivos, al reducir la cantidad de materia orgánica como la hojarasca, que es el microhábitat para el desarrollo de insectos polinizadores.

La mayor amenaza para las poblaciones de polinizadores es el uso de sustancias químicas en los agroecosistemas, ya que la mayoría de sustancias no se encuentran de forma natural en el medio, y en muchos casos sus efectos secundarios se desconocen. El uso de agroquímicos causa mortalidad directa e indirecta en la diversidad y abundancia de los polinizadores, tanto silvestres como domésticos, ya que los insecticidas pueden causar mortalidad por intoxicación directa, mientras que los herbicidas y fertilizantes pueden afectar a los polinizadores indirectamente al disminuir la disponibilidad de recursos florales (APOLO 2011).

IV. METODOLOGIA

4.1. Ubicación del área de estudio.

El trabajo se llevó a cabo en la Finca Concepción, perteneciente al Municipio de Berlín, Departamento de Usulután, con coordenadas de 13°29'35.7" Latitud Norte y 88°31'34.5" Longitud Oeste, con una elevación de 1060 msnm.

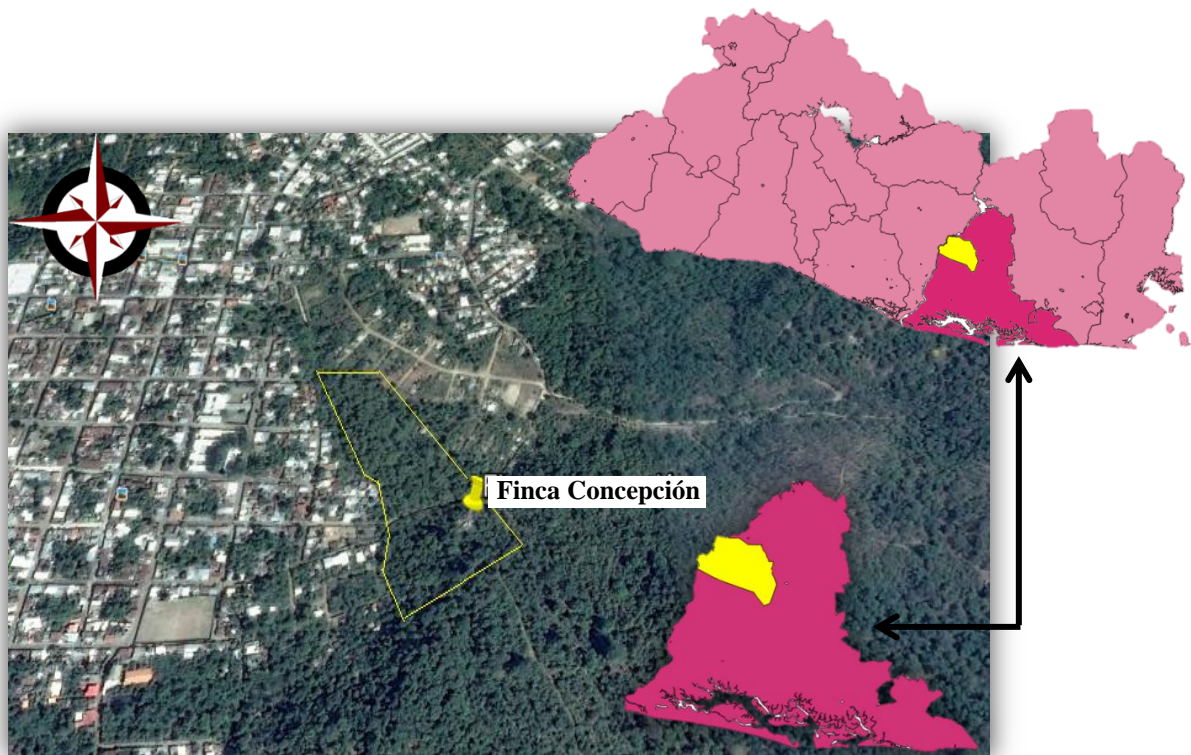


Figura 4. Mapa de la ubicación geográfica del área de estudio, dentro del Municipio de Berlín, Departamento de Usulután. Fuente: Google Earth 26 de julio 2016.

4.2. Descripción del área de estudio.

La finca presenta una extensión de 5.24 Hectáreas, caracterizada por ser un área agrícola de plantación de cacao (*Theobroma cacao L.*), presentando árboles de cacao de tipo Trinitario, con tres variantes diferentes por color; verde, amarillo y rojo, con 7 años de edad, sembrados con una distancia de 3m x 3m, asociados con árboles de sombra como: “higuerillo” *Ricinus*

communis, “aguacate” *Persea americana*, “mamey” *Mammea americana*, “pepeto” *Inga spuria*, “cedro” *Cedrela odorata*, y otras especies en general de árboles frutales y maderables.

4.3. Características edafoclimáticas.

4.3.1. Clima.

Según el perfil climatológico del MARN (2016), el municipio de Berlín se caracteriza por presentar un clima tropical caluroso, con un promedio de temperatura media anual que oscila entre los 23 a 25 °C, con una condición de humedad relativa media de 73.2 % y una precipitación anual entre 1800 a 2300 mm.

4.3.2. Suelo.

La Finca Concepción presenta suelos de tipo latosoles arcilloso rojizos con una textura superficial franco-arcilloso, rico en potasio y con deficiencia de nitrógeno y fosforo. Presenta un pH de 5.9, lo que demuestra que presenta una acidez normal y con una deficiencia del micronutriente Zn que desenvuelve una fusión importante en el desarrollo de las plantas que se nutren de ese elemento presente en los suelos (Análisis de Suelo 2016)*.

4.4. Diseño de Muestreo.

4.4.1. Duración de la fase de campo.

La fase de campo de la investigación se desarrolló en un periodo de 5 meses, realizando un muestreo de 3 días por cada mes, haciendo un total de cinco muestreos, llevándose a cabo la captura de insectos y el control de los frutos que se formaron por la polinización natural y artificial, proceso que se realizó en el primer mes de la investigación.

4.4.2. Parcelas.

De la plantación de cacao se marcaron 2 parcelas de 10m x 50 m (500 m²) (figura 5), tomando en cuenta los siguientes criterios de evaluación: similar cobertura vegetal, tipo de relieve y material parcialmente homogéneo, una parcela se utilizó para la captura de insectos

*Análisis de suelo de la Finca Concepción realizado en el Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, 13 de julio de 2016.

polinizadores y evaluación de la polinización natural y la otra se utilizó para hacer la polinización artificial. Ambas parcelas tuvieron una separación de 50m (Jaffe *et al.* 1986).

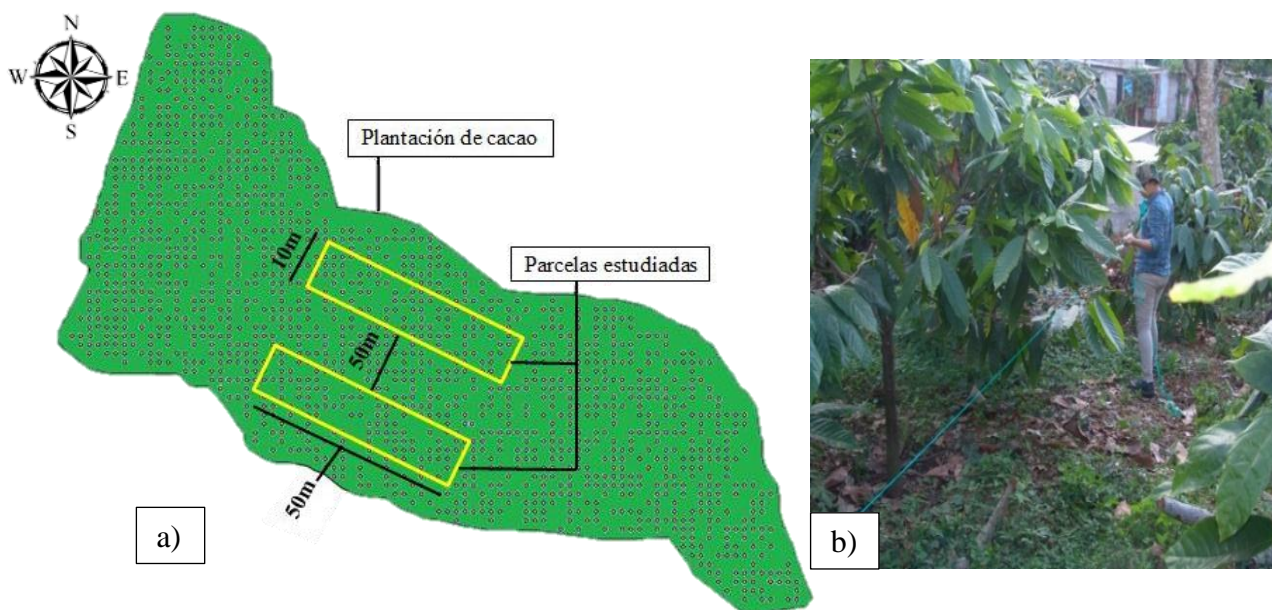


Figura 5. Ubicación de las parcelas de muestreo en el cacaotal. a) Esquema representativo de las parcelas estudiadas. b) medición de las parcelas de cacao estudiadas.

4.4.3. Selección de árboles.

De cada parcela se eligieron 9 árboles, (seleccionados al azar) haciendo un total de 18 árboles entre las 2 parcelas, y fueron marcados con pintura de aceite en spray. Por cada árbol seleccionado se escogieron 20 botones florales para poner en práctica la polinización natural y artificial.

4.4.4. Horas de observación y captura.

La observación y captura de insectos que actúan como polinizadores potenciales (Anexo1) se realizó en las primeras horas de la mañana de 6:00 a.m. a 11:30 a.m. y al final de la tarde cuando el sol ha bajado y el ambiente es fresco de 2:30 p.m. a 5:30 p.m. horas establecidas posteriormente de haber realizado un pre-muestreo, ya que se observó mayor fluctuación de insectos en las horas establecidas. Además de tener en cuenta que la apertura de las flores se lleva a cabo en el transcurso de la noche, lo que hace que en las horas tempranas liberen los

aromas que atraen a los insectos polinizadores, realizando su alimentación en las primeras horas para generar energía para su posterior reproducción (Young 1983).

Durante esos lapsos de tiempo, se recolectó y contabilizó el número de insectos que se encontraron polinizando las flores, siendo estos identificados a través de códigos.

4.4.5. Captura de insectos.

Para la captura de polinizadores entomófilos se aplicaron dos métodos reportados por Moreno (2007):

a. El primero consistió en utilizar un tubo succionador, que está constituido por dos mangueras que se encuentran en la parte superior del recipiente (figura 6a), colocándose una de las mangueras sobre la flor que contenía el insecto que se quería capturar y la otra se colocó en la boca del operario para realizar el proceso de succión (figura 6b).

b. El segundo consistió en utilizar una bolsa plástica transparente de dos libras de capacidad, con la que se cubrieron las flores que contenían el insecto que se quería capturar (figura 6c).

Es importante mencionar que ambos métodos son considerados de gran importancia para la captura de agentes polinizadores.

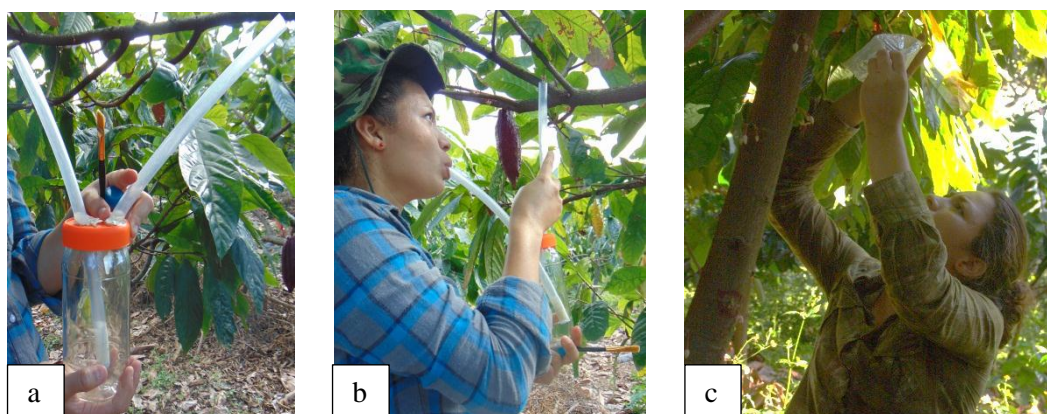


Figura 6. Métodos utilizados para la captura de insectos. a) Tubo succionador. b) Implementación del tubo succionador para la captura de insectos durante la investigación. c) implementación de la bolsa para la captura de insectos polinizadores.

4.4.6. Registro de insectos.

Para llevar el registro de los insectos capturados se diseñó una hoja electrónica en Excel, para indicar en que árbol se recolectó, el número correlativo, orden al que pertenecen, familia e iniciales de su nombre común y científico cuando fue posible (Anexo 2).

4.4.7. Identificación taxonómica de las especies recolectadas.

Los insectos capturados, se depositaron en frascos plásticos (viales) de 50ml de capacidad conteniendo una solución de alcohol diluido al 70%, para su conservación (Guevara 2010). Estos fueron trasladados al laboratorio de Entomología de la Escuela de Biología, de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad de El Salvador, en donde los especímenes fueron agrupados, cuantificados e identificados hasta familia con la ayuda del MSc. René Fuentes, haciendo uso de un estereoscopio y de diferentes claves taxonómicas como la del Dr. German H. Cheli (1978), Soto & Retana (2003), Scudder & Cannings (2006), Borkent & Spinelli (2007), Gutiérrez-Martínez (2014) y Simbaqueba *et al.* (2014).

Para poder identificar los especímenes de la Familia Ceratopogonidae hasta género y especie se hizo contacto con el Dr. Gustavo Spinelli especialista en taxonomía del Museo de la Plata, Argentina, quien facilitó las claves taxonómicas y metodología para hacer montajes permanentes (Anexo 3) de los especímenes encontrados, además de proporcionar el contacto con la Dra. Florentina Díaz especialista en taxonomía del género *Dasyelea* y el Dr. Pablo Marino, especialistas en taxonomía del género *Forcipomyia*, quienes ayudaron a identificar hasta subgénero y especie los especímenes por medio de fotografías (Anexo 4). Para realizar el montaje permanente los especímenes fueron trasladados al laboratorio de Entomología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, CENSALUD, de la Universidad de El Salvador; disponiendo de los materiales y equipos para hacer efectivo el montaje.

4.5. Tipos de polinización.

4.5.1. Polinización natural (Tratamiento 1):

Para evaluar la polinización natural, se marcaron 20 botones florales con viñetas y alfileres de color dorado y se dejaron expuestas a las condiciones naturales con libre visita de insectos (figura 7).



Figura 7. Identificación de los botones florales expuestos a la polinización natural.

4.5.2. Polinización artificial (Tratamiento 2):

Para la evaluación de la polinización artificial, se realizaron autopolinizaciones utilizando la técnica de polinización convencional empleado por Quiroz (1990) y Quinaluisa (2010).

✓ Técnica de polinización.

Para el aislamiento de las flores, se escogieron los botones listos para su apertura (figura 8a), que se identificaron por su mayor turgencia. Sobre estos botones florales se colocaron los tubos plásticos, los cuales se afianzaron con plastilina y hule a la corteza que se encuentra alrededor de la flor (figura 8b). Esta actividad se realizó en las horas de la tarde del día anterior a la apertura de la flor para que no fuera polinizada por los insectos, y así asegurar la polinización artificial.

En la mañana del día siguiente, cuando las flores ya estaban abiertas, se colectaron las flores frescas donadoras de polen (paternas) y se colocaron en un recipiente adecuado. Se retiraron los tubos que protegían las flores receptoras del polen (maternas) y se procedió a realizar la polinización de manera manual. Se tomaron con la pinza los estambres de la flor donadora previamente liberados de la cogulla (figura 1), luego se procedió a colocar las anteras sobre el estigma de la flor receptora, con un movimiento suave de arriba hacia abajo, hasta tener la seguridad de que se había adherido suficiente polen sobre la flor receptora (figura 8c, d.).

Nuevamente se cubrieron las flores polinizadas con los tubos plásticos (figura 8e.), protección que se llevó a cabo por 48 h. retirándose posteriormente.

Las polinizaciones se realizaron dos semanas antes de la captura de insectos del primer muestreo en las horas de la mañana de 7:00 a.m. a 11:00 a.m., teniendo en cuenta que con las altas temperaturas se pierde la viabilidad del polen (Pinzón *et al.* 2008). Sin embargo, para ver si el polen estaba viable para usarse en las polinizaciones se observaron las anteras contraluz con una lupa, como también se pasaba una antera de la flor sobre tela negra y si quedaba la mancha blanca, estaba en buenas condiciones el polen de la flor para utilizarse en las polinizaciones (Pinzón *et al.* 2008).

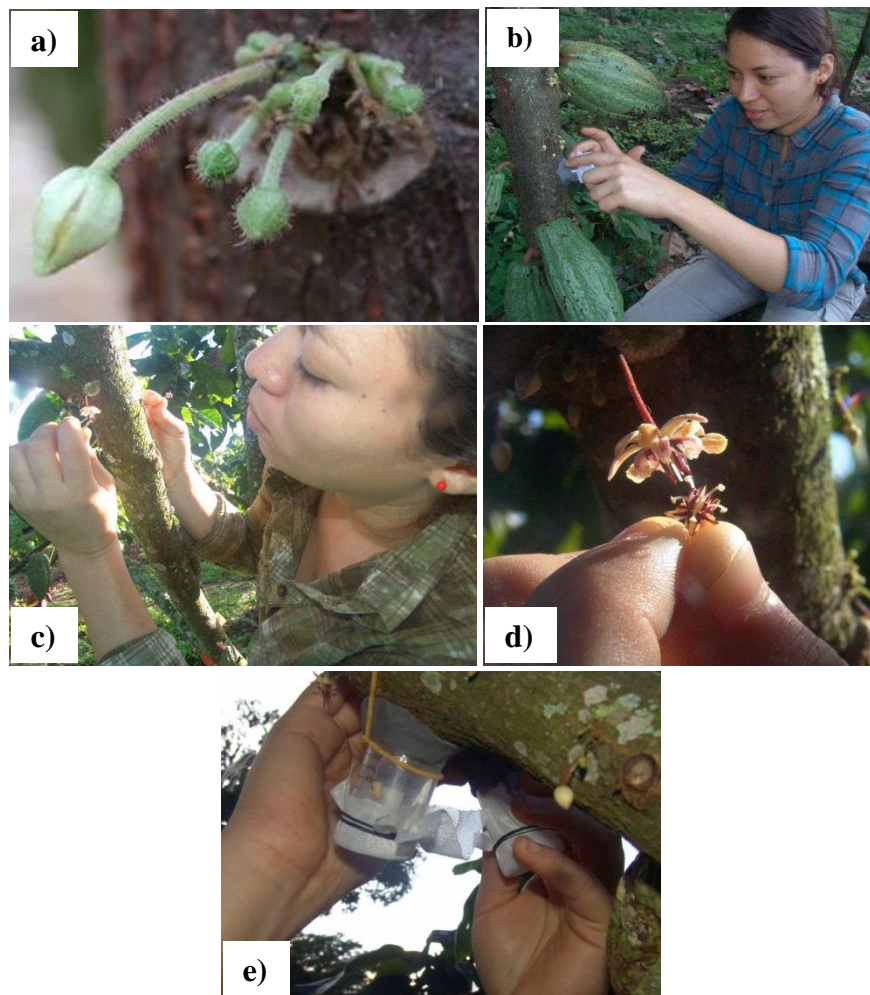


Figura 8. Imágenes del proceso que se llevó acabo para la realización de la polinización artificial. a) botón listo para ser aislado. b) aislamiento del botón. c) preparando la flor receptora para ser polinizada. d) polinización de la flor receptora. e) aislamiento de la flor ya polinizada para observarla después de 48 horas.

4.5.3. Evaluación de tratamientos.

Posteriormente a la polinización natural y artificial, se llevó un control cada semana sobre el número de frutos formados y el número de frutos abortados (Anexo 5). Así también se contabilizaron los frutos que alcanzaron la madurez, de los cuales se tomaron en cuenta 20 frutos cosechados por cada tratamiento, de estos se procedió a determinar el peso por fruto utilizando una balanza digital; su tamaño utilizando una cinta métrica, el número de semillas, el peso unitario promedio por cada semilla y el tamaño de las semillas por fruto, haciendo uso de un calibrador de Vernier (figura 9 y Anexo 6).

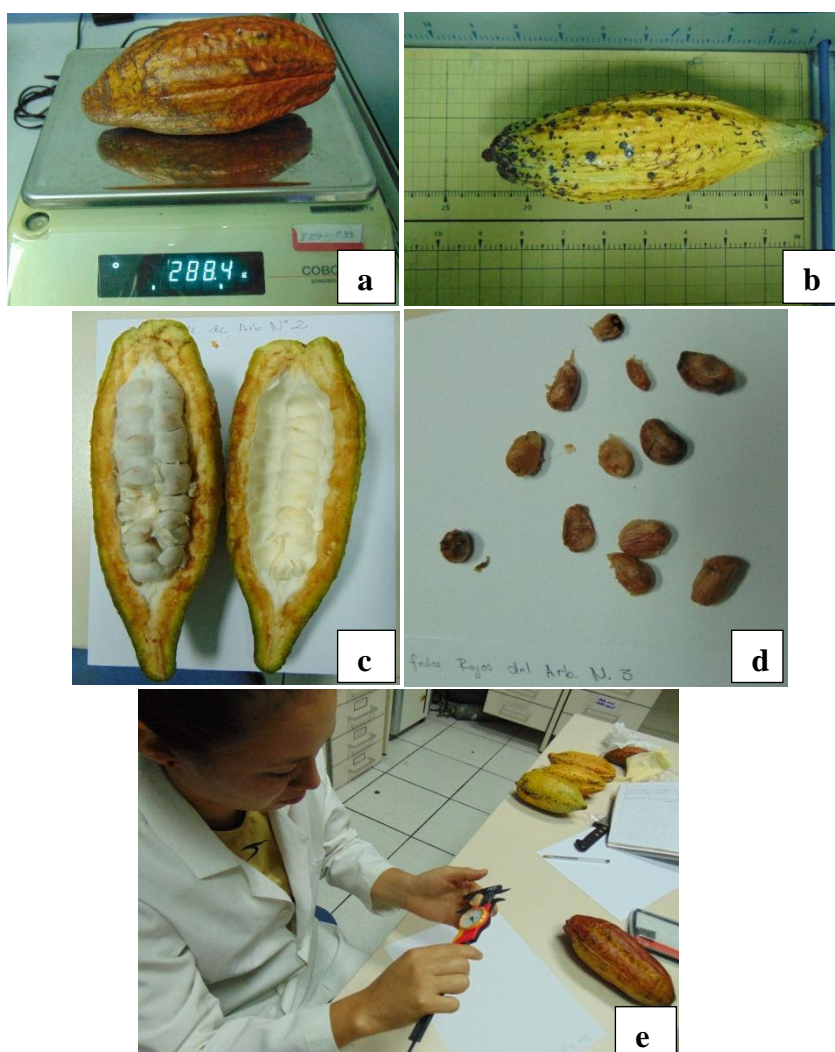


Figura 9. Evaluación de los frutos cosechados. a) Peso del fruto. b) tamaño del fruto. c) corte longitudinal de fruto para hacer el conteo de semillas. d) Contabilización del número de semillas por fruto. e) medición del tamaño de la semilla.

4.6. Análisis de resultados.

Para la presentación de resultados se utilizaron cuadros y gráficos de: diagrama de barra, de pastel y lineal, según como lo requirieron los resultados.

4.7. Análisis estadísticos.

Se elaboró una curva de acumulación de especies, con el propósito de evaluar la efectividad de esfuerzo del muestreo realizado y para medir la biodiversidad de insectos se utilizaron los índices de diversidad, Chao 1, Shannon-Wiener y Simpson, los cuales son recomendados por Moreno (2001), ya que son ideales para procesar datos de biodiversidad de una población, además de ser índices que el Ministerio del Medio Ambiente requiere necesario medir según el manual de inventarios de la biodiversidad (2003). Los datos fueron procesados por medio del paquete estadístico Past 3.1.

4.7.1. Estimador de Chao 1.

Estima el número de especies esperadas considerando la relación entre el número de especies representadas por un individuo (singletons) y el número de especies representadas por dos individuos en las muestras (doubletons).

$$S_1 = S_{obs} + \frac{F_1^2}{2F_2}$$

Dónde:

S_{obs} : número de especies en la muestra.

F_1 : número de especies que solo aparecieron una vez en la muestra.

F_2 : número de especies con exactamente dos ocurrencias en la muestra.

4.7.2. Índice de Shannon-Wiener (H).

Se utilizó porque toma en cuenta la equidad de la comunidad y expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Mide el grado promedio de incertidumbre y predice a que especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una

colección (Magurran, 1988). Asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra. Adquiere valores entre cero, cuando hay una sola especie, y el logaritmo de S, cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos (Magurran, 1988).

$$H = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

Dónde:

S: número de especies

Pi: proporción de individuos de las especies *i* respecto al total de individuos (n_i/N)

Ni: número de individuos de la especie *i*

N: número de todos los individuos de todas las especies

4.7.3. Índice de Simpson (D).

Manifiesta la probabilidad de que dos individuos al azar de una muestra sean de la misma especie. Está fuertemente influido por la importancia de las especies más dominante (Magurran 1988). Como su valor es inverso a la equidad, la diversidad puede calcularse como $1-\lambda$ (Moreno 2001).

$$D = \sum_{i=1}^S p_i^2$$

Dónde:

Pi: abundancia proporcional de la especie *i*, es decir, el número de individuos de la especie *i* dividido entre el número total de individuos de la muestra.

Así también los datos obtenidos en el experimento se sometieron a una prueba de t de Student con el fin de determinar las diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, mediante el paquete informático de Excell 2010 y Past 3.1.

4.7.4. Prueba de t-Student.

Se utilizó para evaluar cuál de los dos tratamientos presenta mayor rendimiento, mediante la diferencia significativa entre las medias de dos grupos.

Se calculó el estadístico t_{cal} a partir de la siguiente formula:

$$t_{cal} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{Sc \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{donde:} \quad Sc = \sqrt{\frac{n_1 s_1^2 + n_2 s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Dónde:

n_1 y n_2 = tamaños de las muestras 1 y 2 respectivamente

\bar{x}_1 y \bar{x}_2 = medias de las muestras 1 y 2 respectivamente

s_1^2 y s_2^2 = varianzas de las muestras 1 y 2 respectivamente

4.8. Evaluación económica mediante la productividad comparada entre la polinización natural y la artificial.

Para la valoración económica se utilizaron los datos obtenidos mediante la polinización natural y artificial. Estimando primero el número de semillas en seco que hacían una libra por medio de las dos polinizaciones, luego se registró la base de datos de producción de la finca, para sacar un promedio de frutos que se cosechan mensualmente, teniendo en cuenta que la finca solo cuenta con polinización natural. Posteriormente con los datos obtenidos en los tratamientos se hizo un aproximado de cuantas semillas presenta un fruto que ha sido polinizado por insectos y un fruto que ha sido polinizado manualmente, para conocer cuántas semillas se obtendrían mensualmente por medio de los dos tratamientos. Con esa información se obtuvo el peso total de las semillas y así el precio de las semillas obtenidas por medio de las dos polinizaciones.

V. RESULTADOS

5.1. Abundancia.

En total se colectaron 465 individuos distribuidos en 17 especies de insectos polinizadores (Tabla 1) perteneciente a 4 órdenes: Díptera, Hemíptera, Hymenoptera y Thysanoptera. El 61.72% pertenece a la familia Ceratopogonidae, seguido de la familia Cecidomyiidae con el 14.84 % del orden Díptera. Un segundo orden reportado es el Thysanoptera representado por la familia Thripidae con el 11.60%. Del orden Hymenoptera se reporta la familia Formicidae con el 7.74%, y del orden Hemiptera la familia Aphididae representando el 4.1% de todos los insectos capturados (figura 10).

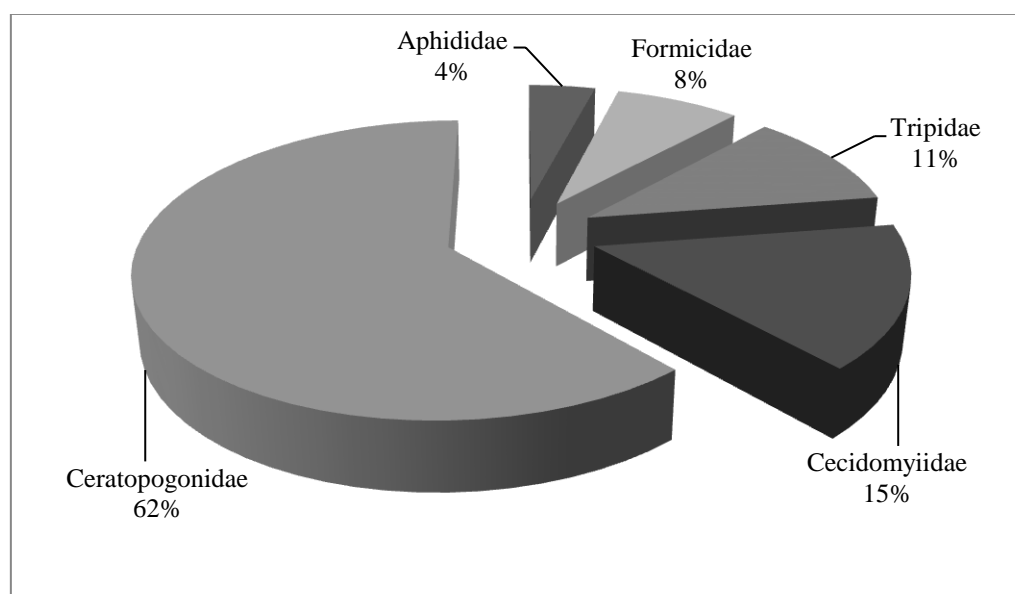


Figura 10. Representación gráfica en pastel de la abundancia relativa de las familias de insectos polinizadores capturados en el cacaotal de la Finca Concepción, Berlín.

Con respecto a la abundancia a nivel de especie, las que se encontraron con mayor número de individuos fueron *Dasyhelea scissurae* con 117 individuos, especie que se encontró presente en todos los muestreos, seguido de *Dasyhelea sp.* con 88 individuos, *Clinodiplosis sp.* con 53 individuos y *Frankliniella parvula* con 50 individuos. Así mismo, hubo un segundo grupo que va de 19 a 36 individuos los cuales fueron, *Pheidole sp.* con 36 individuos, *Forcipomyia (Thyridomyia) jamaicensis* con 26 individuos, *Forcipomyia (Lepidohelea) bicolor* con 24

individuos, *Lestodiplosis sp.* con 20 individuos y *Toxoptera aurantii* con 19 individuos. Finalmente, las especies con menor abundancia entre 6 a 2 individuos fueron: *Dasyhelea cacaoi*, *Dasyhelea williamsi*, *Dasyhelea azteca*, las tres con 6 individuos, *Forcipomyia (Euprojoannisia) blantoni* con 4 individuos, *Forcipomyia (Warmkea) lesliei*, *Forcipomyia (Forcipomyia) genualis*, ambas con 3 individuos, *Forcipomyia (Lepidohelea) annulatipes*, y *Dasyhelea cincta*, ambas presentaron 2 individuos respectivamente (figura 11).

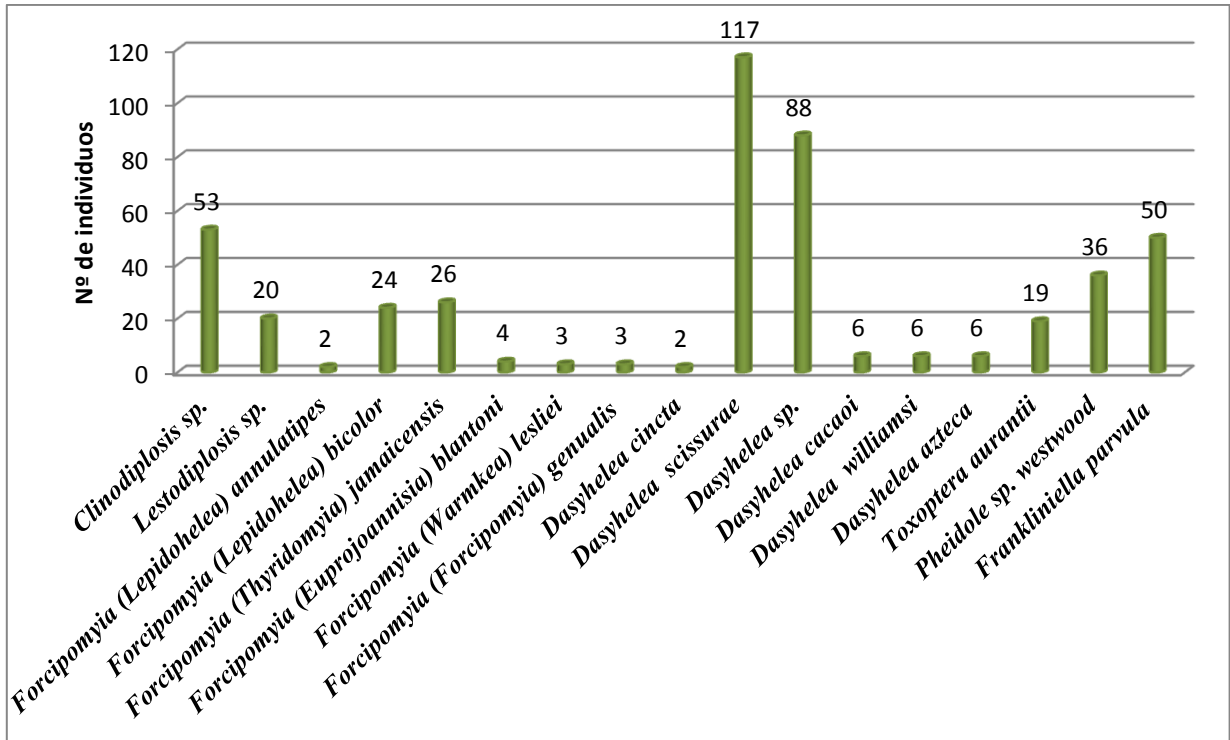


Figura 11. Representación gráfica de la abundancia de insectos polinizadores encontrados en el área de estudio.

Con respecto a la abundancia presente en cada muestreo, la mayor abundancia fue lograda en el último muestreo realizado en febrero encontrándose 117 individuos y el muestreo con menor número de individuos fue en el primero realizado en octubre con 69 individuos. Sin embargo, en los otros muestreos el número de individuos presente se mantuvo ya que osciló entre 86, 90 y 103, lo que nos indica que la abundancia fue constante en el transcurso de los muestreos realizados (figura 12).

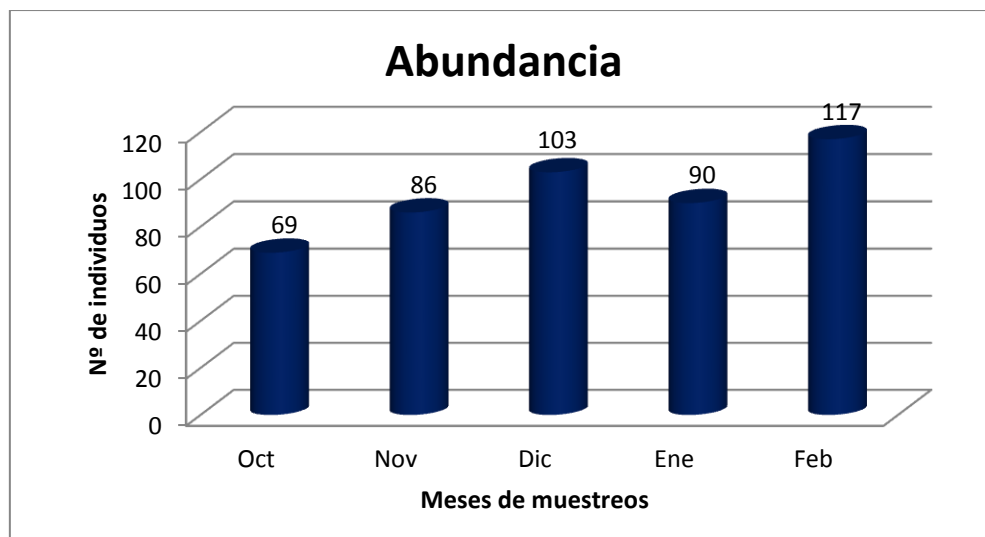


Figura 12. Representación gráfica de la abundancia encontrada por muestreo a partir de la frecuencia observada.

5.2. Riqueza.

Se reporta un total de 17 especies de insectos polinizadores del cacao durante todo el estudio, distribuidos en 7 géneros, siendo reportados por primera vez, como agentes polinizadores para El Salvador los cuales son: *Forcipomyia*, *Dasyhelea*, *Clinodiplosis*, *Lestodiplosis*, *Toxoptera aurantii*, *Pheidole* sp. Westwood y *Frankliniella parvula*.

Dentro de la riqueza de especies encontradas en el cacaotal de la Finca Concepción del Municipio de Berlín están: *Forcipomyia (Lepidohelea) annulatipes*, *Forcipomyia (Lepidohelea) bicolor*, *Forcipomyia (Thyridomyia) jamaicensis*, *Forcipomyia (Euprojoannisia) blantoni*, *Forcipomyia (Warmkea) lesliei*, *Forcipomyia (Forcipomyia) genualis*, *Dasyhelea cincta*, *Dasyhelea scissurae*, *Dasyhelea sp*, *Dasyhelea cacaoi*, *Dasyhelea williamsi*, *Dasyhelea azteca*, *Clinodiplosis sp*, *Lestodiplosis sp*, *Toxoptera aurantii*, *Pheidole* sp. Westwood y *Frankliniella parvula* (Tabla 1).

Tabla 1. Especies de insectos polinizadores reportados en la Finca Concepción.

Orden	Familia	Géneros y Subgéneros	Especies	Muestreos					Total de individuos	
				1	2	3	4	5		
Diptera	Cecidomyiidae	<i>Clinodiplosis</i>	<i>sp</i>	20	6	6	4	17	53	
		<i>Lestodiplosis</i>	<i>sp</i>	0	1	7	3	9	20	
	Ceratopogonidae	<i>Forcipomyia (Lepidohelea)</i>	<i>annulatipes.</i>		2	0	0	0	0	2
		<i>Forcipomyia (Lepidohelea)</i>	<i>bicolor</i>		14	2	7	0	1	24
		<i>Forcipomyia (Thyridomyia)</i>	<i>jamaicensis</i>		0	7	5	3	11	26
		<i>Forcipomyia (Euprojoannisia)</i>	<i>blantoni</i>		0	3	1	0	0	4
		<i>Forcipomyia (Warmkea)</i>	<i>lesliei</i>		0	2	1	0	0	3
		<i>Forcipomyia (Forcipomyia)</i>	<i>genualis</i>		0	0	1	1	1	3
		<i>Dasyhelea</i>	<i>cincta</i>		0	0	1	1	0	2
		<i>Dasyhelea</i>	<i>scissurae</i>		15	23	26	29	24	117
		<i>Dasyhelea</i>	<i>sp</i>		0	18	19	28	23	88
		<i>Dasyhelea</i>	<i>cacaoi</i>		0	0	0	4	2	6
		<i>Dasyhelea</i>	<i>williamsi</i>		0	4	0	0	2	6
		<i>Dasyhelea</i>	<i>azteca</i>		0	2	0	4	0	6
		Hemiptera	Aphididae	<i>Toxoptera</i>	<i>aurantii</i>	12	2	4	1	0
Hymenoptera	Formicidae	<i>Pheidole</i>	<i>sp. westwood</i>	6	4	9	6	11	36	
Thysanoptera	Tripidae	<i>Frankliniella</i>	<i>parvula</i>	0	12	16	6	16	50	
Total				69	86	103	90	117	465	

Dentro de los muestreos realizados, entre octubre y febrero, la mayor riqueza se reporta en los meses de noviembre y diciembre con 13 especies respectivamente, el muestreo con menor número presenta 6 especies y el de mayor presenta 13 especies y en los otros muestreos se mantiene con 11 y 12 lo que nos indica que las especies son constantes en el cultivo (figura 13).

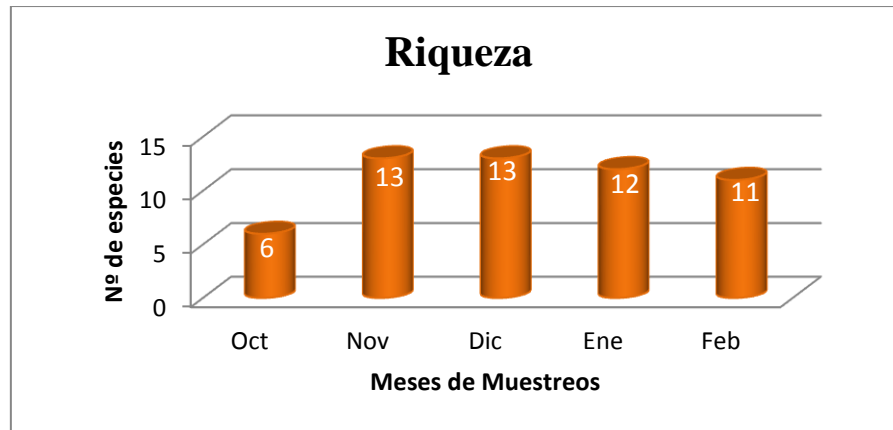


Figura 13. Representación gráfica del número de especies encontradas por muestreo a partir de la frecuencia observada.

En el siguiente grafico (figura 14), se puede apreciar las diferentes especies que se presentaron en cada muestreo y la importancia de la especie *Dasyhelea scissurae*, como agente polinizador para la Finca Concepción, ya que está presente en todos los muestreos y su abundancia es constante, así mismo la siguiente especie a tener en cuenta es *Dasyhelea sp.* por ser la segunda más abundante durante todo el estudio aparte de estar presente en cuatro muestreos y finalmente tenemos a *Clinodiplosis sp.* por ser constante en todos los muestreo realizados y ser la tercera especie con mayor abundancia.

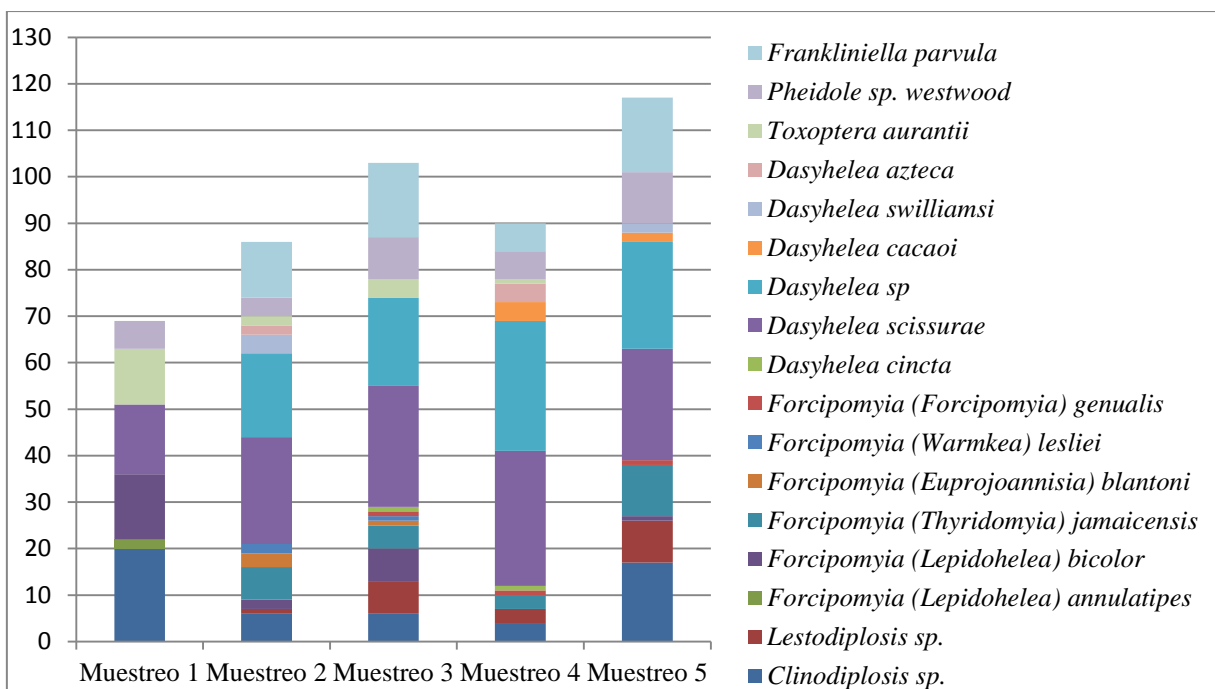


Figura 14. Representación gráfica del acumulativo de especies reportadas por cada muestreo.

5.3. Estimador de riqueza.

El número de especies capturadas fue de 17, mientras que el estimador de Chao1 reporta una riqueza de 19 especies de insectos polinizadores (Tabla 2), alcanzando un nivel de inventario de 89.47% de especies capturadas.

5.4. Esfuerzo de muestreo.

Se realizó una curva de acumulación de especies para los insectos polinizadores la cual da cuenta de la riqueza encontrada en función del esfuerzo de muestreo. Las curvas de acumulación permiten estimar la riqueza real mediante la extrapolación para un esfuerzo de muestreo infinito, ya que en teoría la curva de acumulación alcanza una asíntota cuando la probabilidad de añadir una especie nueva al inventario alcanza finalmente cero (Soberón & Llorente 1993).

La curva de esfuerzo de muestreo, presenta una tendencia generalmente creciente durante los primeros muestreos, tomando un comportamiento asíntótico cuando las especies acumuladas se aproximan al valor total de las mismas. Sin embargo, una observación más detallada de la curva permite ver que esta tiene una pendiente alta hasta que las especies acumuladas alcanzan el valor de 16 en el tercer muestreo, y continua con una pendiente horizontal o un comportamiento asíntótico en el cuarto y quinto muestreo, cuando se alcanzan las 17 especies (figura 15).

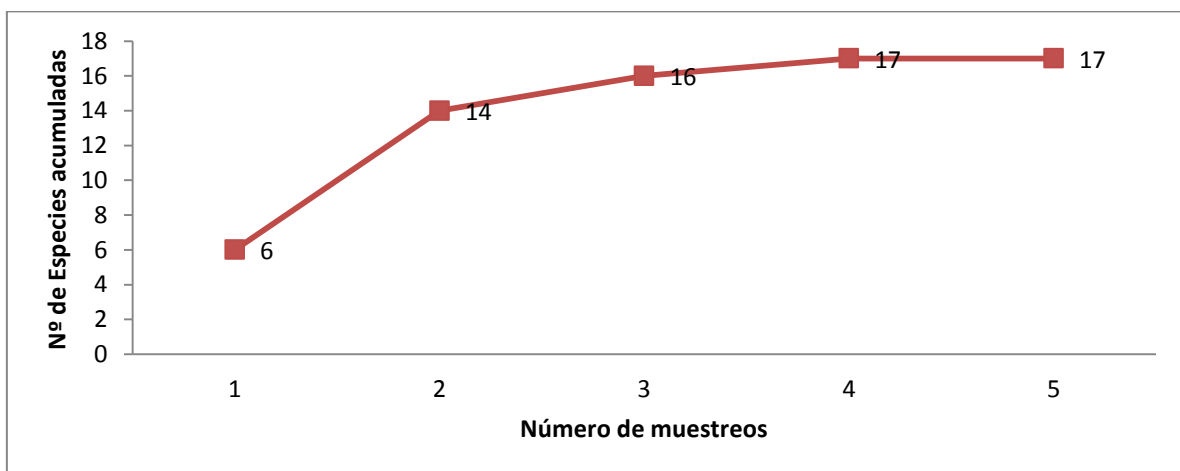


Figura 15. Curva de acumulación de especies por Muestreo en la Finca Concepción.

5.5. Diversidad de Especies.

El valor obtenido para el índice de Shannon-Wiener fue de 2.25 y la estimación a partir del índice de Simpson mostró una dominancia de 0.14 y una diversidad de 0.86 (Tabla 2).

Tabla 2. Valores obtenidos del índice de Chao 1, Shannon-Wiener e índice de Simpson con el programa estadístico PAST, con los datos de insectos polinizadores de la Finca Concepción.

Índices de Biodiversidad calculados.	
Chao1	19
Índice de Shannon-Wiener	2.25
Índice de Simpson	0.14

5.6. Presencia de insectos polinizadores observados en diferentes horas del día.

Durante los muestreos, en la mañana entre los horarios comprendidos de 6:00 a.m. a 11:30 a.m. se contabilizó un total de 264 individuos pertenecientes a 16 especies, representando el 57% del total de individuos capturado durante todo el estudio, mientras que los muestreos realizados en las horas de la tarde entre las 2:30 p.m. a 5:30 p.m. solo se registraron 201 individuos pertenecientes a 13 especies, representando el 43% del total de todos los individuos capturados respectivamente (figura 16).

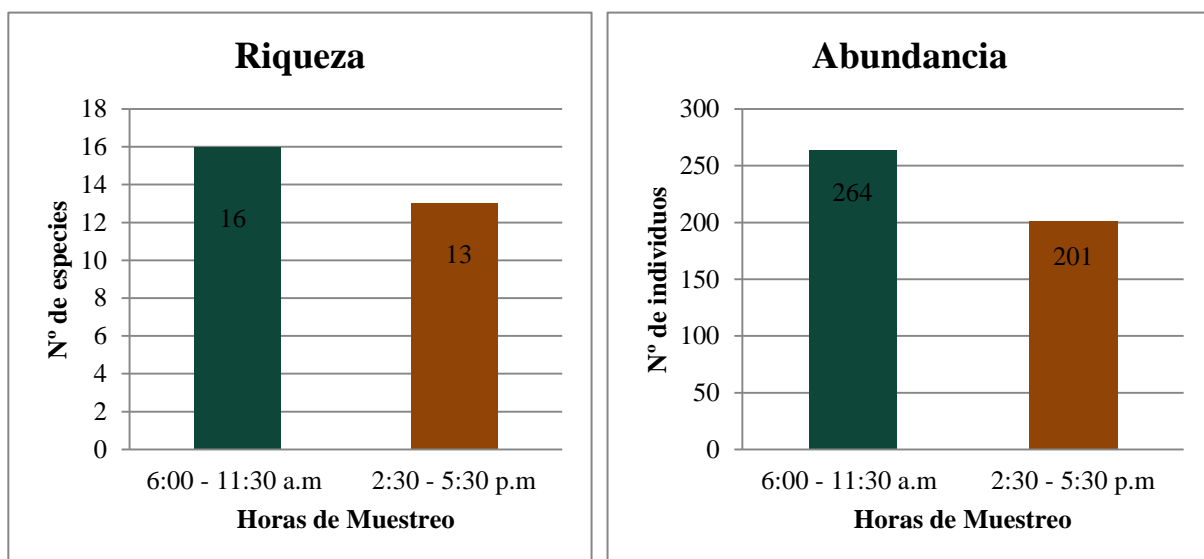


Figura 16. Riqueza y abundancia de especies capturadas según horarios de muestreo.

Entre los horarios comprendidos de 6:00 a.m. a 11:30 a.m. las especies que se encontraron con mayor frecuencia de individuos fueron, *Dasyhelea scissurae* con 63 individuos, *Dasyhelea sp.*, con 46 y *Clinodiplosis sp.*, con 33 respectivamente. No obstante, las especies que se presentaron únicamente en las horas de 6:00 a.m. a 11:30 a.m. fueron *Forcipomyia (Lepidohelea) annulatipes*, *Forcipomyia (Warmkea) lesliei*, *Forcipomyia (Forcipomyia) genualis*, y *Dasyhelea williamsi* (figura 16).

Sin embargo, durante los muestreos realizados en las horas de 2:30 p.m. a 5:30 p.m. las especies que se registraron con mayor número de individuos fueron, *Dasyhelea scissurae* con 54 individuos, *Dasyhelea sp.*, con 42 y *Frankliniella parvula* con 23 respectivamente. Mientras que la especie que se presentó únicamente en los horarios de 2:30 p.m. a 5:30 p.m. fue *Dasyhelea azteca* (figura 16).

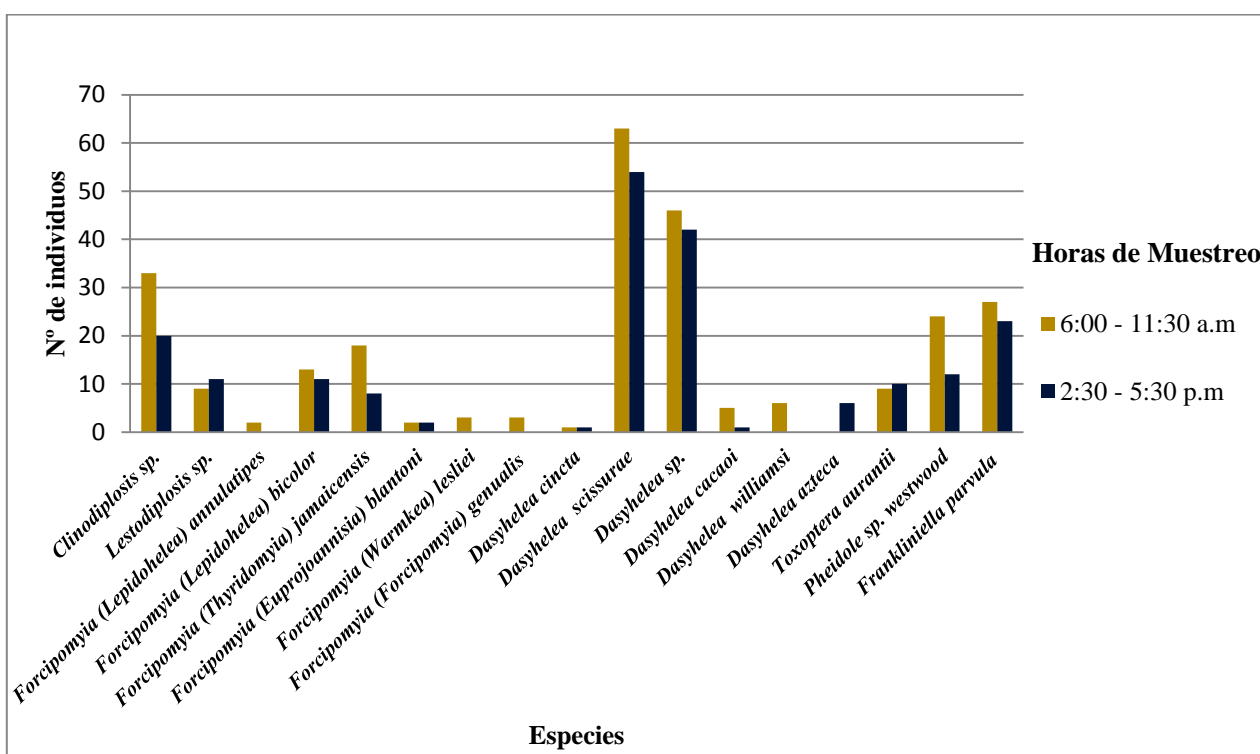


Figura 17. Representación gráfica de las especies capturadas según los horarios de muestreo.

En la Tabla 3, se puede observar que la frecuencia de individuos por especies, es mucho más marcada en las horas de la mañana, lo que indica que los insectos presentan mayor actividad entre las 6:00 a.m. a 11:30 a.m. que en las horas de 2:30 p.m. a 5:30 p.m. Esto puede deberse a que los insectos ectotérmicos, presentan mecanismos reguladores de temperatura diferentes

del medio, por lo que necesitan de la temperatura del ambiente para adquirir calor, por ello su actividad es más frecuente durante momentos esporádicos de calor en el transcurso del día (Torres-Díaz *et al.* 2007).

Tabla 3. Especies de insectos polinizadores reportados entre las horas de 6:00 a.m. a 11:30 a.m. y de 2:30 p.m. a 5:30 p.m.

Orden	Familia	Géneros y Subgéneros	Especies	6:00- 11:30 a.m.	2:30-5:30 p.m.	Total	
Diptera	Cecidomyiidae	<i>Clinodiplosis</i>	<i>sp</i>	33	20	53	
		<i>Lestodiplosis</i>	<i>sp</i>	9	11	20	
	Ceratopogonidae	<i>Forcipomyia (Lepidohelea)</i>	<i>annulatipes</i>	.	2	0	2
		<i>Forcipomyia (Lepidohelea)</i>	<i>bicolor</i>		13	11	24
		<i>Forcipomyia (Thyridomyia)</i>	<i>jamaicensis</i>		18	8	26
		<i>Forcipomyia (Euprojoannisia)</i>	<i>blantoni</i>		2	2	4
		<i>Forcipomyia (Warmkea)</i>	<i>lesliei</i>		3	0	3
		<i>Forcipomyia (Forcipomyia)</i>	<i>genualis</i>		3	0	3
		<i>Dasyhelea</i>	<i>cincta</i>		1	1	2
		<i>Dasyhelea</i>	<i>scissurae</i>		63	54	117
		<i>Dasyhelea</i>	<i>sp</i>		46	42	88
		<i>Dasyhelea</i>	<i>cacaoi</i>		5	1	6
		<i>Dasyhelea</i>	<i>williamsi</i>		6	0	6
		<i>Dasyhelea</i>	<i>azteca</i>		0	6	6
		Hemiptera	Aphididae	<i>Toxoptera</i>	<i>aurantii</i>	9	10
Hymenoptera	Formicidae	<i>Pheidole</i>	<i>sp.</i> <i>westwood</i>	24	12	36	
Thysanoptera	Tripidae	<i>Frankliniella</i>	<i>parvula</i>	27	23	50	
Total				264	201	465	

Se aplicó la prueba estadística t-Student para verificar si la diferencia de medias en las horas de preferencia de la entomofauna es significativa, con un nivel de significancia de un 5%. Comprobándose estadísticamente que existió diferencia significativa ($P < 0.05$) para las horas de 6:00 a.m. a 11:30 a.m. ($\bar{X} = 15.53$) y de 2:30 p.m. a 5:30 p.m. ($\bar{X} = 11.82$), para la variable presencia de agentes polinizadores (Tabla 5). Con estos resultados se verifica estadísticamente que los insectos prefieren las horas más frescas para realizar el proceso de polinización ya que presentan mayor actividad en las horas de la mañana.

5.7. Producción de cacao mediante la polinización natural y artificial.

5.7.1. Frutos iniciales y frutos finales.

Durante la investigación en la polinización natural, de frutos iniciales se registró un total de 74 frutos, y en la polinización artificial un total de 39 frutos. Mientras que, de frutos finales, para la polinización natural se registraron 45 frutos y en la polinización artificial 22 frutos (Tabla 4) (figura 18).

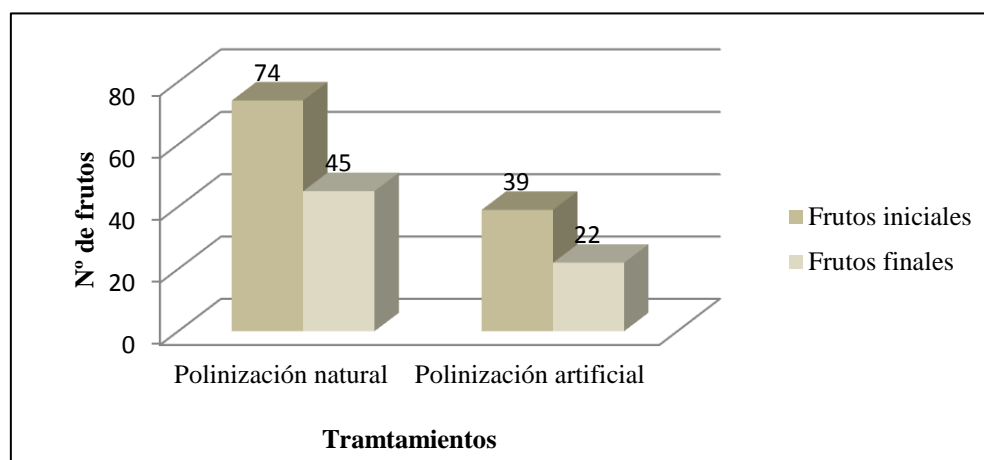


Figura 18. Resultados de la polinización natural versus la artificial sobre el número de frutos iniciales y frutos finales de cacao.

Tabla 4. Resultados de frutos iniciales y finales en ambos tratamientos.

Nº de árboles	Nº de Flores polinizadas	Polinización Natural.			Polinización Artificial.		
		Frutos iniciales	Frutos caídos	Frutos finales	Frutos iniciales	Frutos caídos	Frutos finales
1	20	10	5	5	7	6	1
2	20	8	2	6	4	1	3
3	20	5	2	3	1	1	0
4	20	7	1	6	2	1	1
5	20	13	6	7	9	3	6
6	20	11	4	7	10	5	5
7	20	7	3	4	1	0	1
8	20	5	3	2	5	0	5
9	20	8	3	5	0	0	0
TOTAL	180	74	29	45	39	17	22
\bar{X}		8.22	3.22	5	4.33	1.88	2.44

Según el estadístico aplicado existió diferencia significativa ($P < 0.05$), para frutos iniciales con medias de (polinización natural $\bar{X} = 8.22$; polinización artificial $\bar{X} = 4.33$), observándose diferencias bien marcadas entre ambos tratamientos, igualmente para frutos finales ya que presentó diferencia estadísticamente significativa (polinización natural $\bar{X} = 5$; polinización artificial $\bar{X} = 2.44$) (Tabla 6).

Referente al peso para ambos tratamientos, se reportó que en la polinización natural se obtuvo un peso promedio de 782.6 g por fruto, el cual fue mayor en comparación con la polinización artificial que fue de 410.9 g (figura 19).

Además, se aprecia el efecto de los tratamientos sobre el peso de las semillas ya que las semillas obtenidas por medio de la polinización natural tienen un peso promedio en mucilago de 3.06g y en seco de 0.92g, en cambio en la polinización artificial las semillas tienen un peso promedio en mucilago de 1.93g y en seco de 0.58g.

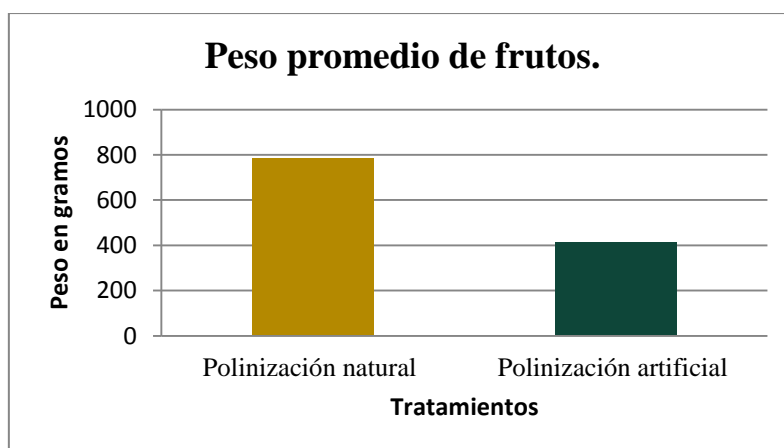


Figura 19. Representación gráfica del peso promedio de los frutos evaluados por cada tratamiento.

Para el tamaño, el fruto obtenido por medio de la polinización natural, alcanzó un mayor tamaño promedio de 24.2cm x 8.98 cm, mientras que los frutos obtenidos por medio de la polinización artificial alcanzaron un tamaño promedio de 19.24cm x 7.59 cm., observándose una diferencia bien marcada entre los frutos de ambos tratamientos (figura 20).

En relación al tamaño de la semilla, la polinización natural presentó un tamaño promedio de 2.4 cm x 1.86 cm., mientras que las semillas obtenidas por medio de la polinización artificial

alcanzó un tamaño promedio de 1.85cm x 0.98 cm., apreciándose una diferencia bien marcada en el tamaño de la semilla de ambos tratamientos.

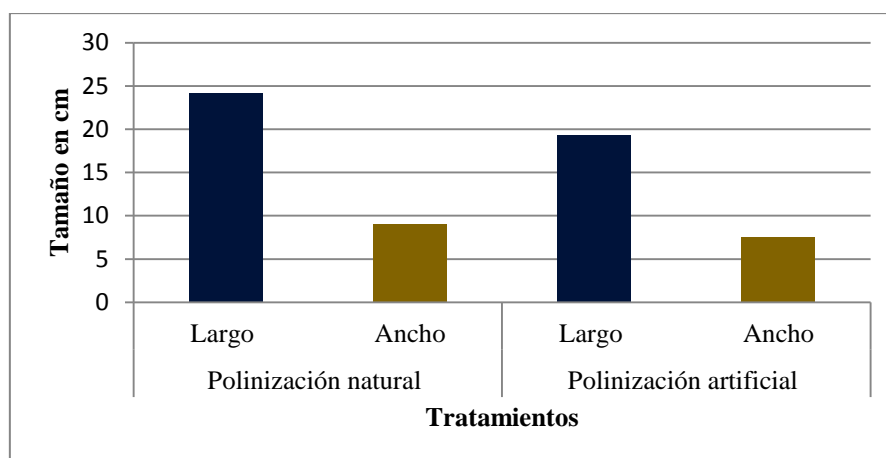


Figura 20. Representación gráfica del tamaño promedio de los frutos evaluados por cada tratamiento.

Con respecto al número de semillas, la polinización natural obtuvo un total de 916 semillas y un promedio de 45.8 semillas por fruto, y con la polinización artificial se obtuvo un total de 698 y un promedio de 34.9 semillas por fruto, destacándose que los frutos que lograron mayor rendimiento, corresponden a aquellos obtenidos mediante la polinización natural (figura 21).

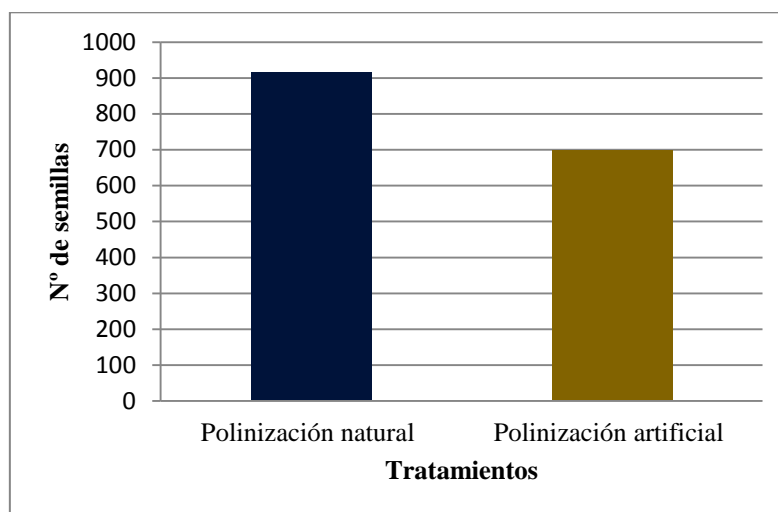


Figura 21. Representación gráfica del número total de semillas de los frutos evaluados por cada tratamiento.

Tabla 5. Resultados obtenidos de los frutos evaluados de los dos tratamientos.

N°	Polinización Natural							Polinización Artificial						
	Tamaño de fruto en cm		Peso de fruto en g	N° de semillas por fruto	Tamaño promedio de semillas por fruto		Peso promedio de la semilla en g.	Tamaño de fruto en cm		Peso de fruto en g	N° de semillas por fruto	Tamaño promedio de semillas por fruto		Peso promedio de la semilla en g.
	Largo	Ancho			Largo	Ancho		Largo	Ancho			Largo	Ancho	
1	21.6	8.73	649.4	47	2.17	1.21	2.7	12.64	8.1	301	52	1.8	0.6	1.3
2	19.8	8.93	502.4	50	2.17	1.26	2.22	20.8	6.6	287.4	16	1.98	0.9	2.1
3	26.8	8.84	834.6	43	2.41	1.28	3.3	15.03	7.12	225	12	1.94	1.12	1.7
4	20.4	8	353.8	37	2.22	1.18	1.7	19	7.4	288.4	24	2.22	1.14	1.87
5	20.6	7.63	346.8	31	2.32	1.27	1.8	22	8.1	491	36	2.05	0.86	2.25
6	24.2	8.56	598.8	45	2.35	1.42	3	14.23	6.42	195.2	22	1.76	0.9	0.55
7	26.4	9.42	901.6	42	2.69	1.31	3.58	25.5	8.27	652	58	1.88	0.95	2.27
8	27.6	9.86	1003.2	53	2.59	1.46	3.72	25	8.45	606.3	44	1.83	0.99	1.9
9	23.4	9.98	1010.6	30	2.36	1.34	4.56	28	7.63	616.4	43	1.76	0.87	1.82
10	28.6	10.1	1478.5	61	2.4	1.35	3.99	19.8	6.57	267.4	22	1.55	0.83	1.62
11	23.9	8.82	783.2	57	2.6	1.37	3.23	19	6.72	305.8	43	1.57	0.94	1.35
12	22.4	8.26	542.6	33	2.44	1.3	3.15	21	7.64	427.4	47	1.68	0.94	1.7
13	22.7	8.63	653.6	48	2.2	1.3	2.8	21	7.04	368.6	42	1.8	0.99	1.81
14	20.2	8.86	510.4	51	2.3	2.26	2.54	19.2	6.84	338.6	48	1.65	0.97	1.6
15	27.4	8.87	837.4	45	2.41	1.27	3.37	20	9.39	655.3	37	1.94	1.05	2.78
16	24.9	8.81	788.9	55	2.6	1.36	2.53	19	8.36	481.6	35	2.12	1.11	2.81
17	21.8	8.7	658.2	47	2.2	1.22	2.83	18.8	7.42	431.9	37	1.78	1.11	2.4
18	26.1	9.39	921.1	44	2.7	1.33	3.51	14.52	8.34	498.5	28	2.2	1.29	3.18
19	28.1	9.9	1278.3	57	2.62	1.37	3.56	15.3	7.53	335	17	1.43	0.9	1
20	27.5	9.31	998.6	40	2.57	1.44	3.18	15.05	7.91	445.3	35	2.07	1.2	2.59
Σ	484.4	179.6	15652	916	48.32	37.3	61.27	384.9	151.85	8218.1	698	37.01	19.66	38.6
X	24.22	8.98	782.6	45.8	2.416	1.865	3.064	19.24	7.5925	410.91	34.9	1.8505	0.983	1.93

Estadísticamente existió diferencia significativa ($P < 0.05$), para los dos tratamientos evaluados con respecto al peso, número de semillas y tamaño. Por lo tanto, estos datos se ajustan a la lógica de producción, observándose que la polinización natural presenta una mayor producción que la polinización artificial, en relación a las variables anteriormente mencionadas (Tabla 6).

Tabla 6. Resultado de la prueba estadística t-Student, para las diferentes variables evaluadas con un nivel de significancia del 5%.

Variables evaluadas	P.Nat.	P.Art.	Valor prueba t	Valor p	Hipótesis aceptada
	\bar{X}	\bar{X}			
Frutos iniciales	8.22	4.33	4.92	0.0011	H1
Frutos finales	5	2.44	3.12	0.014	H1
Peso del fruto (g)	782.6	410.9	5.54	0.000024	H1
Ancho del fruto (cm)	8.98	7.59	6.216	0.0000028	H1
Largo del fruto (cm)	24.22	19.24	4.27	0.00041	H1
Nº de semillas por fruto	45.8	34.9	2.89	0.0093	H1
Peso promedio de la semilla (g)	3.06	1.93	5.16	0.000056	H1

H₀. Estadísticamente no existe diferencia significativa entre los dos tratamientos.

H₁. Estadísticamente existe diferencia significativa entre los dos tratamientos.

P>: al nivel de significancia, se acepta la hipótesis nula.

P<: al nivel de significancia, se rechaza la hipótesis nula

5.8. Evaluación económica mediante la productividad comparada entre la polinización natural y la artificial.

La valoración económica se calculó utilizando los datos obtenidos por medio de la polinización natural y artificial (Tabla 7). Con el resultado de estos datos podemos observar el valor económico que tienen los polinizadores con respecto a la producción, por lo que es necesario hacer un buen manejo en las plantaciones de cacao para no perjudicarlos, ya que las malas prácticas no solo afectan a los polinizadores sino también a la producción.

El grano de cacao es comercializado de muchas formas en el mercado ya que se puede vender fermentado, sin fermentar o lavado, cada proceso requiere tiempos diferentes, al igual el secado puede ser al sol o por medio de máquina, logrando un peso final diferente dependiendo el método utilizado, debido a esta serie de procesos se decidió trabajar con los resultados estandarizados en laboratorio por Umaña (2013) de grano seco, estandarizando que el peso final del grano oscila entre 30% del 100% de humedad (peso en mucilago), lo que indica que la semilla en el proceso pierde el 70% de su peso total.

Tabla 7. Parámetros de productividad medidas mediante la polinización natural y artificial en el cultivo de cacao.

Parámetros	Polinización natural	Polinización artificial
Peso promedio de las semillas en mucilago (gramos)	3.06g	1.93 g
Peso promedio de las semillas en seco (gramos)	0.92g	0.58 g
Numero de semillas que hacen una libra en seco	493 semillas	783 semillas
Promedio de la producción mensual de la finca en fruto	2563 frutos	2563 frutos
Número de semillas por fruto	46 semillas	35 semillas
Número de semillas obtenidas mensualmente	117,898 semillas	89705 semillas
Peso total de las semillas en seco (libras)	239.14 lb	115 lb
Precio de la libra de cacao en el mercado	\$ 2.00	\$ 2.00
Precio total de las semillas mensualmente en libra:	\$ 478.29	\$ 230
Precio total de la semilla al año (libras)	\$5,739.48	\$2,760
Diferencia monetaria	\$ 2,979.48 dólares	

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Entre los insectos que se encontraron polinizando las flores de cacao, solo los géneros *Forcipomyia* y *Dasyhelea*, son considerados de mayor importancia debido a su capacidad de efectuar un trabajo de polinización especializada y significativa, de acuerdo a los estudios realizados por De la Cruz y Soria (1973), Winder (1978) y Kaufmann (1975). Sin embargo, la importancia de la familia Cecidomyiidae, entre ella los géneros *Lestodiplosis* y *Clinodiplosis* ambos reportados en esta investigación, son considerados por Young (1985), como polinizadores efectivos para el cultivo de cacao, ya que su aparato bucal presenta partes alargadas y funcionales para aspirar líquido como néctar floral, además de presentar sensilas abdominales y patas inusualmente largas que atrapan granos de polen de cacao.

Así también las especies encontradas como *Frankliniella parvula*, *Pheidole* sp. westwood, y *Toxoptera aurantii* son considerados como polinizadores de naturaleza accidental, debido a que realizan la polinización casualmente cuando andan en busca de otros bienes (Soria 1970).

En cuanto a la abundancia, el género más abundante fue *Dasyhelea*, encontrándose siempre presente en todos los muestreos con una abundancia constante, lo que demuestra que hay mayor actividad de *Dasyhelea* en el cacaotal estudiado indicando que su fuente principal de alimentación es el néctar de cacao, al contrario de lo que expresa Soria *et al.* (1980) que reporta al género *Forcipomyia* como el más efectivo y el más activo de acuerdo a los cacaotales estudiados. Posiblemente esta diferencia pueda estar relacionada con las condiciones ambientales de la finca en estudio.

La mayor abundancia registrada de insectos polinizadores para el presente estudio se logró en el quinto y último muestreo realizado en el mes de febrero, sin embargo, el número alcanzado no es muy diferente a lo obtenido en los otros muestreos, lo que indica que de los meses muestreados de octubre a febrero hay una abundancia constante, en relación a la abundancia de los polinizadores esto podría deberse a que son los meses de transición; ya que en la época lluviosa las poblaciones de insectos aumentan y en la época seca disminuyen por lo que en la época de transición se mantienen constantes las poblaciones de insectos.

Dentro de las 17 especies capturadas cuatro fueron las más dominantes en el cacaotal de la Finca Concepción, de las cuales 3 presentaron abundancia mayor a los 50 individuos

capturados (*Dasyhelea scissurae*, *Dasyhelea sp.* y *Clinodiplosis sp.*) y una con 50 (*Frankliniella parvula*). En este trabajo además se reportan 5 especies con abundancia muy baja, las cuales pueden ser consideradas especies raras o especies turistas, esto debido a que la mayoría apareció en uno o dos muestreos y con abundancia de 1 a 4 individuos.

En relación a la riqueza de insectos polinizadores los resultados obtenidos fueron normales ya que se logró reportar el 89.47% de la riqueza esperada del ecosistema del cacaotal estudiado, además al comparar con el estudio De la Cruz & Soria (1973), se pudo observar que el cacaotal estudiado presenta una alta riqueza de insectos polinizadores ya que en su investigación solo reportaron 9 especies durante el periodo de todo un año de muestreo.

Young (1983), indica que a nivel de género los que se encuentran con mayor riqueza en los agroecosistemas de cacao son *Forcipomyia* y *Atrichopogon*, sin embargo, en el presente estudio, los géneros que presentaron mayor número de especies fueron *Dasyhelea* y *Forcipomyia*, no reportando ni una sola especie del género *Atrichopogon*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, respecto a la curva de acumulación de especies, se puede observar que el esfuerzo de muestreo alcanzó un rango óptimo, según el comportamiento de la curva, lo cual indica que se logró reportar la riqueza esperada para este ecosistema.

Además el valor obtenido por el estimador Chao 1 y por medio de la frecuencia observada, mostraron que se hicieron los muestreos necesarios, para conocer la riqueza de especies de insectos polinizadores de la finca, ya que los datos indican que el punto con mayor riqueza de especies se encontraron, en el segundo y el tercer muestreo, comenzando a decrecer el número de especies en el cuarto muestreo lo que indica que el número de muestreos fueron suficientes para conocer la riqueza polinizadora que se encuentra presente en la Finca Concepción.

Los índices de biodiversidad calculados demostraron valores óptimos en relación a la diversidad del lugar, por ejemplo, Shannon-Wiener represento una diversidad de 2.25, lo que indica una diversidad normal de especies de insectos polinizadores para la Finca Concepción. Sin embargo, Solano (2010), indica en su estudio que el índice de diversidad de Shannon-Wiener con respecto a las familias de insectos colectados, osciló entre 0.88 para el cacao con

sombra y 0.31 para el cacao sin sombra, lo que reflejo en su ensayo que los valores del índice fueron relativamente bajos, ya que los valores recomendables de un ecosistema deben oscilar entre 2 a 3, de acuerdo al criterio de valuación (Moreno 2001).

Por otra parte, al aplicar el índice de Simpson como un índice de contraste para medir la dominancia se obtuvo el valor $D= 0.14$, siendo este valor más cercano a cero que a 1, lo que indica que existe alta diversidad ($1-D= 0.86$), puesto que Pielou (1969), señala que a medida el índice incrementa, la diversidad disminuye, por tanto, el índice de Simpson sobrevalora las especies más abundantes en detrimento de la riqueza total de especies. Entonces entre más se acerca a uno, la diversidad disminuye.

Con relación a las horas de muestreo se reportó mayor número de especies y mayor número de individuos entre las 6:00 -11:30 a.m. que en las horas de la tarde de 2:30 – 5:30 p.m. este resultado coincide con la información que presenta Young (1983), quien señala que la horas más visitadas por los polinizadores oscilan entre las 6:00-10:30 a.m. debido a la apertura de las flores que es realizada en el transcurso de la noche, lo que hace que en las horas tempranas la flor presente las estructuras florales más predisuestas a la polinización, los colores más activados y los aceites florales que atraen a los insectos están más persistentes. Sin embargo, menciona que en las horas de la tarde siempre hay cierta fluctuación de insectos polinizadores.

Así mismo, al comparar los resultados obtenidos por medio de la polinización natural y la artificial, se demostró que hubo mayor número de frutos formados (frutos iniciales) y frutos que llegaron a la madurez (frutos finales) por medio de la polinización natural, resultados que difieren con los obtenidos por Medina (1973), ya que el señala que en sus ensayos obtuvo un mayor número de frutos por medio de la polinización artificial. Probablemente este acontecimiento puede ser atribuido a que la planta *Theobroma cacao* presenta el problema de incompatibilidad sexual (Enríquez 1985).

A través de los resultados obtenidos de los tratamientos evaluados, la polinización natural obtuvo mayor rendimiento en cuanto al peso, tamaño y número de semillas, en comparación con la polinización artificial que presentó bajo rendimiento de las variables antes mencionadas, de la misma manera al aplicar la prueba t-Student existió estadísticamente diferencias significativas para las variables evaluada (Tabla 6).

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los obtenidos por Neira *et al.* (2003), quien evaluó 4 tipos de polinizaciones, entre ellas la natural y la artificial en el cultivo de Murta (*Ungi molinae* Turcz.), obteniendo como resultado que por medio de la polinización natural se alcanzaron frutos con mayor tamaño y peso en relación a los obtenidos por medio de polinización artificial. Asimismo, Martínez (2014), realizó un ensayo con Guayabos (*Acca sellowiana* Berg.) donde evaluó el efecto de los polinizadores, por medio de flores al aire libre y flores cubiertas, para ver la influencia de los polinizadores en este cultivo por medio de la formación de frutos y la obtención del fruto final, obteniendo como resultado mayor formación de frutos y con mayor tamaño los que se formaron por libre polinización.

Finalmente Moreno (2007), en su investigación sobre el cultivo de pipián (*Cucurbita mixta*) determinó que los frutos obtenidos por medio de la polinización natural, presentaron mayor número de semillas y con mayor tamaño. Estos resultados obtenidos en diferentes cultivos hacen establecer criterios a favor de los agentes polinizadores ya que se puede observar que en todos los estudios los frutos obtenidos son más vigorosos, lo que demuestra la eficiencia de los insectos como polinizadores.

En cuanto a la valoración económica, se realizó por medio de los resultados obtenidos en los dos tratamientos ya que por medio de la diferencia monetaria entre la polinización natural y la polinización artificial se le dio un valor económico a los polinizadores, al observar el rendimiento obtenido por medio de cada tratamiento.

Al comparar los resultados de producción del cacao utilizando los dos tipos de polinización, se afirma que los insectos juegan un papel importante en la producción de alimentos para el consumo del ser humano; ya que en todos los aspectos que se evaluaron se observó una mayor productividad del cultivo polinizado por insectos en comparación a lo producido artificialmente, en el caso del presente estudio, se puede afirmar que la producción del cacao polinizado por insectos presenta un rendimiento hasta de un 100% más que lo producido por polinización artificial.

VII. CONCLUSIONES

- ✓ Se identificaron 17 especies como insectos polinizadores del cultivo de cacao de los cuales 14 especies pertenecientes a la familia Ceratopogonidae y Cecidomyiidae, estos son considerados como insectos especializados para realizar el proceso de polinización, mientras que las otras tres especies pertenecientes a las familias Aphididae, Formicidae y Tripidae son considerados como polinizadores de naturaleza accidental.
- ✓ Los insectos que se observaron realizando el proceso de polinización con mayor frecuencia pertenecen a la familia Ceratopogonidae y Cecidomyiidae, destacándose en el primer grupo la especie *Dasyhelea scissurae*, mientras que de los Cecidomyiidae sobresalió el género *Clinodiplosis sp.*
- ✓ Los principales insectos polinizadores son los dípteros de la familia Ceratopogonidae, de los géneros *Dasyhelea* y *Forcipomyia*, siendo de mayor importancia para la finca Concepción el género *Dasyhelea*, ya que presentó la mayor abundancia y fue constante durante todo el estudio.
- ✓ Las horas entre las cuales se presentó el mayor número de insectos registrados como polinizadores del cacao fueron entre las 6:00 – 11:30 a.m. mientras que en las horas de 2:30 – 5:30 p.m. se registró menor número de especies e individuos de insectos polinizadores del cacao, lo que nos demuestra la mayor actividad de polinizadores en las horas de la mañana.
- ✓ La polinización natural obtuvo mayor número de flores fecundadas, en relación a la polinización artificial, existiendo estadísticamente diferencia significativa, por lo tanto, el número de insectos polinizadores presentes en la finca influyen sobre la producción final de la plantación de cacao.

- ✓ Los frutos cosechados por medio de la polinización natural, presentaron un mayor rendimiento con relación a las variables evaluadas (peso, tamaño y número de semillas) en comparación con los frutos cosechados por medio de la polinización artificial.

- ✓ El valor económico que tienen los insectos con relación a la polinización es alto, ya que con las variables evaluadas (peso, tamaño y número de semillas) por medio de la polinización natural y artificial se pudo estimar económicamente el trabajo que realizan por medio de las ganancias en la producción.

- ✓ Los resultados obtenidos en la presente investigación constituyen un aporte valioso al conocimiento de la entomofauna del país, ya que es el primer reporte sobre los insectos polinizadores del cultivo de cacao para El Salvador.

VIII. RECOMENDACIONES.

- ✓ Se recomienda proteger la cobertura de los suelos de las plantaciones de cacao con suficiente hojarasca y materia en descomposición ya que son utilizados por los insectos polinizadores (Ceratopogonidae y Cecidomyiidae) como sitios de criaderos, dado que les proporciona las condiciones de microhabitat necesarias para su reproducción.
- ✓ Es importante dar seguimiento a esta investigación en otros departamentos de El Salvador, para conocer la biodiversidad de insectos polinizadores que se encuentran presentes en las diferentes plantaciones de cacao del país, y de esta manera poder hacer el manejo agronómico adecuado en cada cacaotal.
- ✓ Se recomienda un estudio sobre valoración económica más amplio para ver el aporte de la polinización natural a la productividad por hectárea en una plantación de cacao.
- ✓ Se recomienda en futuras investigaciones ensayar otros métodos más efectivos para la recolecta de insectos polinizadores, ya que es necesario considerar el papel tan importante que estos insectos juegan en las plantaciones de cacao, pues gracias a ellos se obtiene un mayor rendimiento en la producción del cultivo.
- ✓ Se recomienda realizar muestreos en las dos épocas del año para conocer más ampliamente la biodiversidad de insectos polinizadores que se encuentran presentes en las plantaciones de cacao.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ángel, A. 2012. El cacao en El Salvador, de regreso al futuro, parte I. [En línea]. Blog sobre la agricultura centroamericana y global. [Consultado el 20 May.2016]. Disponible en: <https://amyangel5.wordpress.com/2012/05/21/cacao1/>
- [APOLO] Observatorio de Agentes Polinizadores. 2011. [En línea]. Polinizadores y Biodiversidad. Informe técnico. [Consultado el 18 May. 2016]. Disponible en: http://apolo.entomologica.es/cont/materiales/informe_tecnico.pdf
- Aranzazu, F., Martínez, N. & Rincón-Guarín, D. 2008. Aunocompatibilidad e intercompatibilidad sexual de materiales de cacao. Unión Temporal de Cacao. Bucaramanga, Colombia. 24 p.
- Batista, L. 2009. Guía Técnica el Cultivo de Cacao en la República Dominicana. Santo Domingo, República Dominicana. CEDAF, 250pp.
- Brew, A. H 1984. Studies on Cocoa Pollination in Ghana. Proc. 9th International Cocoa Research Conference Lome 567-71
- Borkent A. & G. Spinelli. 2007. Neotropical Ceratopogonidae (Díptera: Insecta). In: J. Adis, J. R. Arias, G. Rueda-Delgado, & K. M. Wantzen. (eds.) Aquatic Biodiversity in Latin America. Vol. 4. Pensoft, Sofia-Moscow, 198p.
- [CATIE] Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 1982. Informe de la situación actual, perspectiva del cultivo e industrialización del cacao en Centroamérica. Departamento de producción vegetal. Turrialba, Costa Rica.
- [CONABIO] Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2008. [En línea]. *Theobroma cacao* L. Sterculiaceae. México. [Consultado el 17 may. 2016]. Disponible en: <http://bit.ly/25J9fFH>
- Córdoba, C., Celda, R., Deheuvels, O., Hidalgo, E. & Declerck F. 2013. Polinizadores, polinización y producción potencial de cacao en sistemas agroforestales de Bocas del Toro, Panamá. Agroforestería en las Américas. 49: 26-32.

- De la Cruz, J. & Soria, S. 1973. Estudios de fluctuaciones de polinización del cacao por las mosquitas *Forcipomyia spp.* (Diptera: Ceratopogonidae), en Palmira, Valle de Colombia.
- [DGIEA-MAG] Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 1991. Aspectos Técnicos sobre Cuarenta y Cinco Cultivos Agrícolas de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Dubón, A., & J.A. Sánchez. 2016. Manual de producción de cacao. 2ª Ed. [FHIA] Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. La Lima, Cortes, Honduras, C.A. 264P.
- Enríquez, G. A. 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. [CATIE] Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 240p.
- Enríquez, G.A. 1987. Manual de cacao para agricultores. Ed. Universidad Estatal a Distancia, San José. Costa Rica. 117p.
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2008. [En línea]. Polinización un servicio del ecosistema. [Consultado el 20 May. 2016]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/i0112s/i0112s06.pdf>
- Ferreirim, L. 2013. Salvemos las abejas, la importancia de la polinización. [En línea]. GREENPEACE. [Consultado el 20 May.2016]. Disponible en: <http://www.greenpeace.org/espana/es/Blog/salvemoslasabejas-la-importancia-de-la-polini/blog/44144/>
- German H. Cheli. 1978. Clave para identificar los principales ordenes de la Clase Insecto.
- Guevara, F. 2010. Estudio de los insectos polinizadores del cacao (*Theobroma cacao L.*) en los cultivos localizados en la ruta del cacao de la zona del suroccidente de Guatemala. [Tesis de Grado]. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Gutiérrez-Martínez, P.R. 2014. Clave para la identificación de las subfamilias y los géneros de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de Costa Rica. Research Journal of the Costa Rican Distance Education University. Vol. 6(1): 105-123.

- [GREENPEACE]. 2014. Alimentos bajo amenaza. [En línea]. Valor económico de la polinización y vulnerabilidad de la agricultura española ante el declive de las abejas y otros polinizadores. [Consultado el 20 May.2016]. Disponible en: <http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/2014/Report/abejas/alimentos%20bajo%20amenaza%20BR.pdf>
- Hardy, W. 1961. Manual de cacao. Ed. LEHMANN. [IICA] Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Turrialba, Costa Rica. 439p.
- [INIAP] Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 1993. Manual de Cultivo del Cacao. 2°ed. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Quevedo, Ecuador. 131 p.
- Jaffe, K., Tablante, A., & Sánchez, P. 1986. Ecología de Formicidae en plantaciones de Theobroma cacao. Revista Theobroma. 16(4):189-197.
- Jiménez, G. 1980. El sombreado del cacao. [UCR-CATIE] Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales. Turrialba, Costa Rica.
- Kalvatchev, Z., Garzaro D. & Guerra F. 1998. Theobroma cacao L. un nuevo enfoque para nutrición y salud. Caracas, Venezuela. 6:23-25.
- Kaufmann, T. 1975a. Ecology and Behavior of Cocoa Pollinating Ceratoponidae in Ghana, W. Africa. Environmental Entomology. 4(2):347-351.
- León, J. 1987. Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales. 2°ed. [IICA] Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.445 p.
- Magurran, A. E. 1988. Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press, New Jersey, 179 p.
- [MARN] Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2003. Manual de Inventarios de la Biodiversidad, San Salvador, El Salvador, Centro América. 199p.
- [MARN] Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2016. Perfil Climatológico Anual de Santiago de María de 2007-2016. El Salvador.

- Martínez, E. 2014. Dependencia a la polinización entomófila y relevamiento de los insectos polinizadores de tres cultivos de interés económico para Uruguay. [Tesis de Posgrado]. Facultad de Ciencias. Universidad de la Republica, Montevideo Uruguay.
- Mavisoy, H., Cabezas, S., Ballesteros, W. & Somarriba, E. 2009. Evaluación de la abundancia de Ceratopogonidos (Diptera) polinizadores de cacao (*Theobroma cacao L.*) en la hojarasca de 7 árboles de sombra, Talamanca, Costa Rica. [Tesis de Grado]. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Nariño, Colombia.
- Medina, M. 1973. Efecto de la polinización artificial y entomófila en el rendimiento del cacao. [Tesis de Grado]. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Moreno, A. 2007. Identificación de agentes polinizadores entomófilos en el cultivo de pipián (*Cucurbita mixta*), a campo abierto en el Cantón el almendro, del municipio de Jucuarán, Departamento de Usulután. [Tesis de Grado]. Escuela de Biología. Universidad de El Salvador.
- Moreno, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. [SEA] Sociedad Entomológica Aragonesa, vol.1. Zaragoza, 84 p.
- Neira, M., Sylvester, E., Riveros, M., Carrillo, R. & Cárdenas, A. 2003. Biología reproductiva y entomofauna asociada a flores de murta (*Ungi molinae Turcz.*) y evaluación del comportamiento de los Himenópteros polinizadores. Rev. Chilena Ent. 29:71-79.
- Palíz, V., Mendoza, J., Cansing, V. 1982. Insectos asociados al cultivo del cacao en el Ecuador. [INIAP] Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Quevedo, Ecuador.
- Peña, J.E. 2003. Insectos polinizadores de frutales tropicales: no solo las abejas llevan la miel al panal. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. Costa Rica. 69: 6-20.
- Pielou, E. 1969. An Introduction to Mathematical Ecology. [En línea]. Wiley Interscience. New York, EE.UU. 98 pp. [Consultado el 20 Oct. 2017]. Disponible en: <http://rev-inv-ope.univparis1.fr/files/26205/IO-26205-9.pdf>

- Pinzón, J., Rojas, J. & Rojas F. 2008. Guía técnica para el cultivo del cacao. 3^{ra} Ed. [FEDECACAO] Federación Nacional de Cacaocultores. Bogotá, Colombia. 189p.
- Quiroz, J. G. 1990. Estudio de la compatibilidad en algunos cultivares de cacao (*Theobroma cacao L.*). [Tesis de Grado]. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Técnica de Babahoyo. Provincia de los Ríos, Ecuador.
- Quinaluisa, C. 2010. Estudio de la compatibilidad de árboles seleccionados por productividad y sanidad en un grupo de progenies híbridas provenientes de cruces entre cacao (*Theobroma cacao L.*) nacional y otros orígenes genéticos. [Tesis de Grado]. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador.
- Reyes, H. & Capriles, L. 2000. El cacao en Venezuela moderna tecnología para su cultivo. Caracas, Venezuela.
- Ríos, F., Gavilanes, M., Melo, C., & Acosta, N. 1997. Diagnostico biológico de plantaciones de cacao. Quito, Ecuador.
- Salazar, M. 1949. Informe final sobre el cultivo del cacao. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Turrialba, Costa Rica. 17p
- Sánchez, J.A., & A. Dubón. 1994. Establecimiento y manejo de cacao con sombra. [CATIE] Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.
- Simbaqueba R., F. Serna & F. J. Posada-Flórez. 2014. Curaduría, morfología e identificación de Áfidos (Hemiptera: Aphididae) del Museo Entomológico UNAB. Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas, 18 (1): 222-246.
- Soberón, J. & Llorente, J. 1993. The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. Conservation Biology, 7(3): 480–488.
- Solano, P. 2010. Diversidad de insectos en sistemas agroforestales con cacao en zona de influencia del Cantón Quevedo. [Tesis de Grado]. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica de Quevedo, Ecuador.

- Soria, V. 1970. Studies on *Forcipomyia* spp. midges (Diptera: Ceratopogonidae) related to the pollination of *Theobroma cacao* L. Dissertation Abstracts International (31) 5.
- Soria, S., Wirth, W., & Chapman, K. 1980. Insect pollination of cacao in Costa Rica. Preliminary list of the ceratopogonid midges collected from flowers. *Revista Theobroma*, 10 (2): 61-68.
- Soto, G.A. & A.P. Retana. 2003. Clave ilustrada para los géneros de Thysanoptera y especies de *Frankliniella* presentes en cuatro zonas hortícolas en Alajuela, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 27(2): 55-68.
- Suarez, C., M. Moreira & J. Vera. 1993. Manual del Cultivo de Cacao. 2ªed. EET-Pichilingue. Quevedo. Ecuador. 131p.
- Scudder G.G.E. & R.A. Cannings. 2006. The Diptera families of British Columbia. 158p.
- Torres-Díaz, C., L. Cavieres, C. Muñoz-Ramírez, & M. Arroyo. 2007. Consecuencias de las variaciones microclimáticas sobre la visita de insectos polinizadores en dos especies de *Chaetanthera* (Asteraceae) en los Andes de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*. 80:455-468.
- Winder, J. 1978. Recent research on insect pollination of cocoa. *Cocoa Growers Bulletin*, 26: 11-19.
- Young, A. M. 1982. Effects of shade cover and availability of midge breeding sites on pollinating midge population and fruit set in two cocoa farm. *Journal of Applied Ecology*. 19:47-63
- Young, A. M. 1983. Seasonal differences in abundance and distribution of cocoa-pollinating midges in relation to flowering and fruit set between shaded and sunny habitats of the La Lola coca farm in Costa Rica. *Journal of Applied Ecology*. 20: 801-828.
- Young, A. 1985. Studies of Cecidomyiid midges (Diptera: Cecidomyiidae) as cocoa pollinators (*Theobroma cacao* L.) in central America. *PROC. ENTOMOL. SOC WAH*. 87(1), pp 49-79.

Young, A. M. 1986. Habitat Differences in Cocoa Tree Flowering, Fruit-Set, and Pollinator Availability in Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology*. 2:163-186.

X. ANEXOS

ANEXO 1. Fotografías tomadas en campo, identificando a los insectos polinizadores al realizar todo un recorrido alrededor de la flor de cacao, por medio de observación directa.

Género *Dashyelea* sp.



Insecto polinizador observado realizando la polinización al desarrollar todo un recorrido alrededor de la flor cacao.

Género *Forcipomyia* sp.



Insecto polinizador observado realizando la polinización al desarrollar todo un recorrido alrededor de la flor de cacao.

Pheidole sp. westwood



Formicidae haciendo el recorrido alrededor de la flor de cacao.

Frankliniella parvula



Toxoptera aurantii



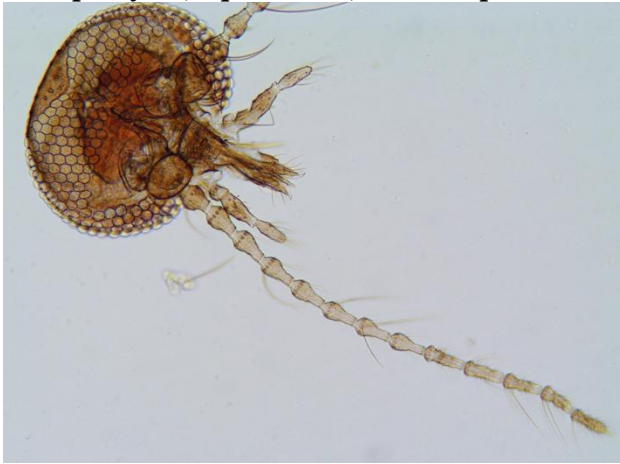
Insectos observados en campo desplazándose alrededor de la flor de cacao.

ANEXO 3. Marcha para la preparación de especímenes permanentes proporcionada por el Dr. Gustavo Spinelli (Modificada).

- ✓ Se colocó el espécimen en una caja de Petri con alcohol etílico y se separaron las alas con un par de pinzas finas, colocando estas en otra caja de Petri con ácido acético al 15%.
- ✓ Se separó del espécimen la cabeza, el tórax y el abdomen, simplemente rompiendo la membrana de manera que todas las piezas permanecieran unidas entre sí, colocándose las piezas en un vial con 3 ml de hidróxido de potasio al 8%.
- ✓ Posteriormente los viales con hidróxido de potasio se colocaron en baño de maría a una temperatura de 85°C, dejándolos durante 5 minutos, para la limpieza correcta de los especímenes.
- ✓ Al pasar los 5 minutos se retiró la muestra del vial y se colocó en una caja de Petri con tres gotas de hidróxido de potasio al 8% y se observó al estereoscopio para ver si las estructuras del espécimen estaban limpias correctamente.
- ✓ Cuando la muestra se limpió lo suficiente, se colocó en ácido acético junto con las alas y se dejó durante 15 minutos.
- ✓ Posteriormente se colocó en 2-propanol durante 15 minutos.
- ✓ Luego se colocó la muestra en un vial con 2-propanol y aceite de clavo, donde se dejó hasta que las partes del espécimen llegaran al fondo del vial de 20 a 60 minutos, dependiendo del tamaño del espécimen.
- ✓ Para finalizar, las partes del espécimen se colocaron en aceite de clavo puro y se dejaron por 30 minutos.
- ✓ Luego se procedió a realizar la preparación permanente del espécimen utilizando ENTELLAN.

ANEXO 4. Microfotografías de microscopio de campo claro en 10x de las estructuras de los especímenes por medio de las cuales se identificaron hasta especie.

Forcipomyia (Lepidohelea) annulatipes



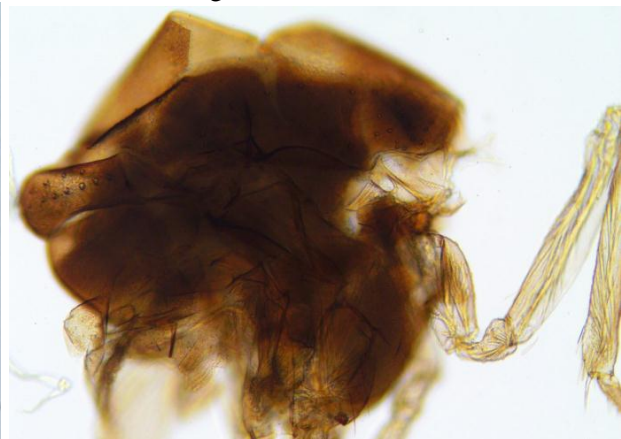
Cabeza y antena.



Unión entre los segmentos de la antena.



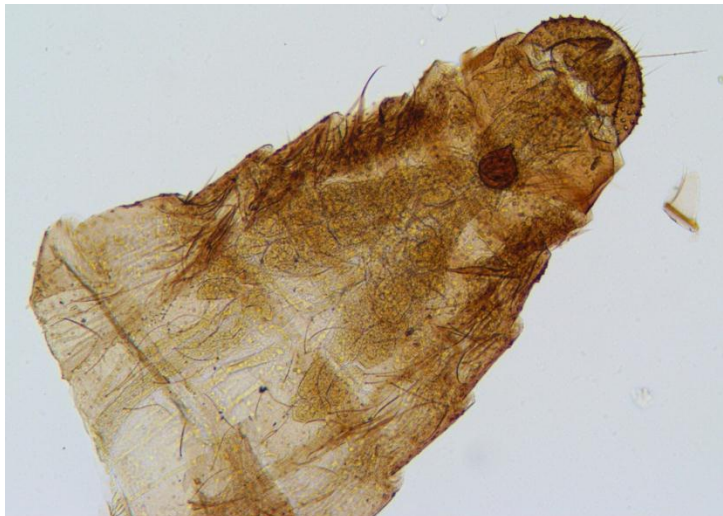
Palpo: grado de fusión entre el cuarto y quinto segmento y tercer segmento con fosa.



Tórax: diseño en el escudo.

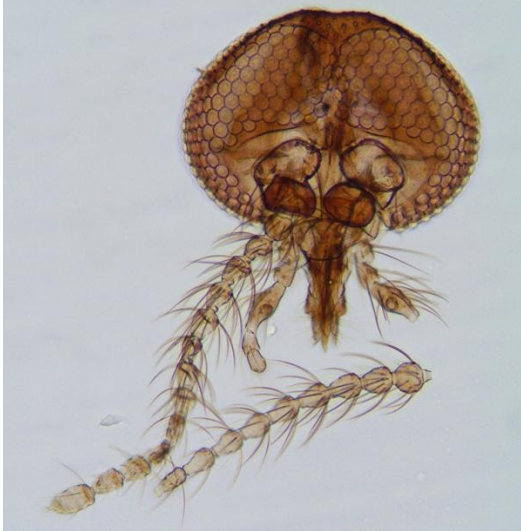


Patas: patrón de bandeo.



Abdomen: genitalia de hembra con presencia de una espermateca.

Forcipomyia (Lepidohelea) bicolor



Cabeza y antena.



Unión entre los segmentos de la antena.



Palpo: grado de fusión entre el cuarto y quinto segmento y tercer segmento con fosa.



Tórax: diseño del escudo.



Patas: patrón de bandeo.



Abdomen: genitalia de hembra con presencia de dos espermateca.

Forcipomyia (Thyridomyia) jamaicensis.



Cabeza y antena.



Unión entre los segmentos de la antena.



Palpo: grado de fusión entre el cuarto y quinto segmento y tercer segmento con fosa



Tórax: diseño del escudo.



Patas: patrón de bandeo



Abdomen: genitalia de hembra con presencia de una espermateca.

Forcipomyia (Euprojoannisia) blantoni



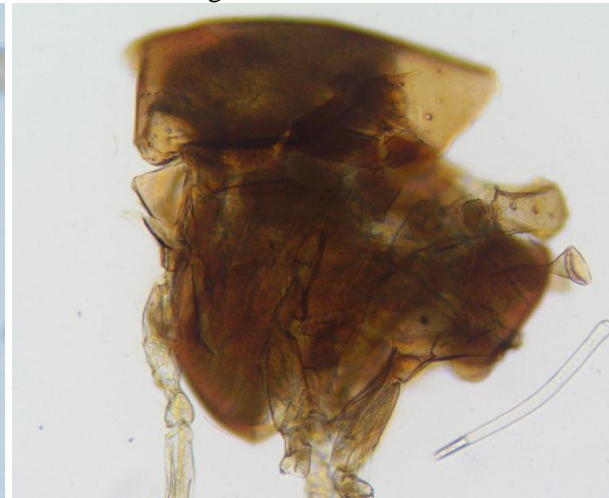
Cabeza y antena.



Unión entre los segmentos de la antena.



Palpo: grado de fusión entre el cuarto y quinto segmento y tercer segmento sin fosa.



Tórax: diseño del escudo.



Patas: patrón de bandeado.



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de macho.

Forcipomyia (Warmkea) lesliei



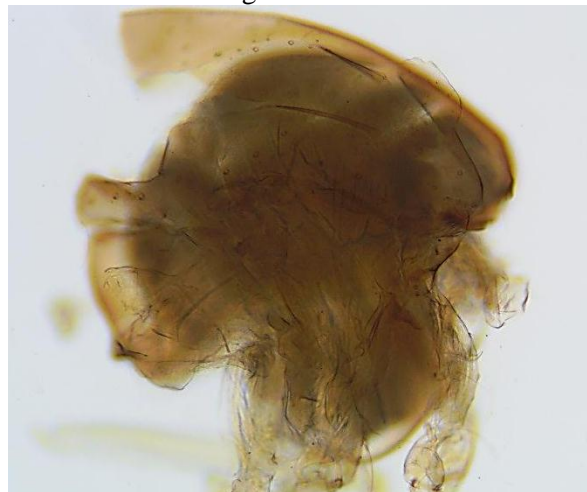
Cabeza y antena.



Unión entre los segmentos de la antena.



Palpo: grado de fusión entre el cuarto y quinto segmento y tercer segmento sin fosa.



Tórax: diseño del escudo.

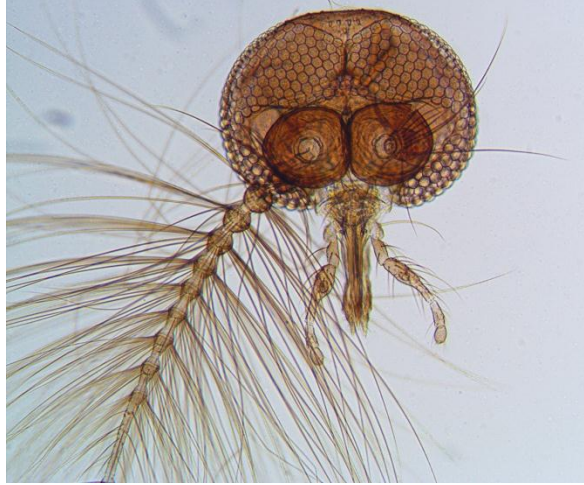


Patas: patrón de bandeo.

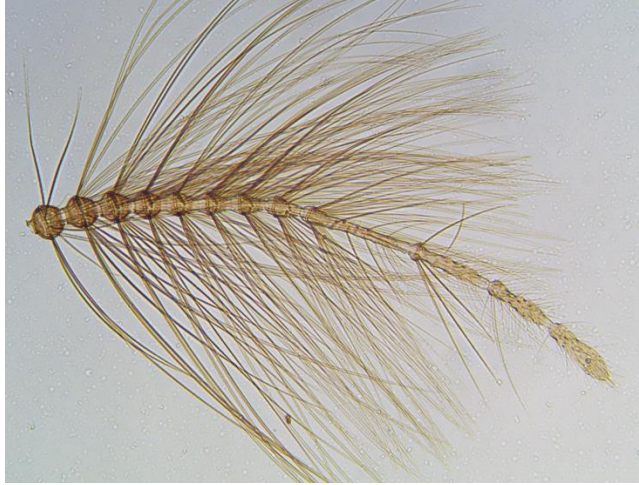


Abdomen: forma y diseño de la genitalia de macho.

Forcipomyia (Forcipomyia) genualis



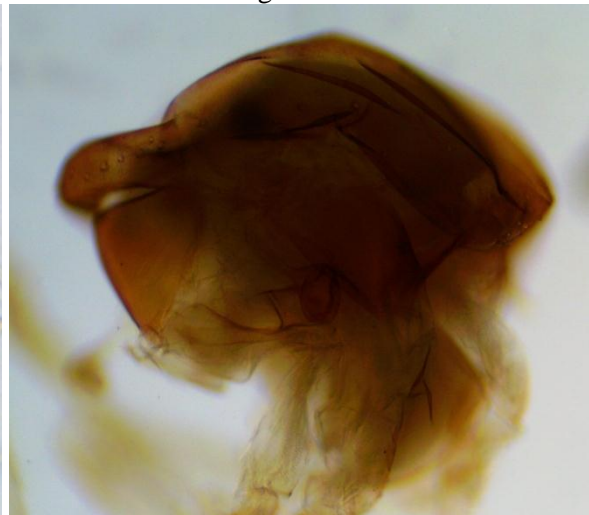
Cabeza y antena.



Unión entre los segmentos de la antena.



Palpo: grado de fusión entre el cuarto y quinto segmento y tercer segmento con fosa.



Tórax: diseño del escudo.



Patas: patrón de bandeado



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de macho.

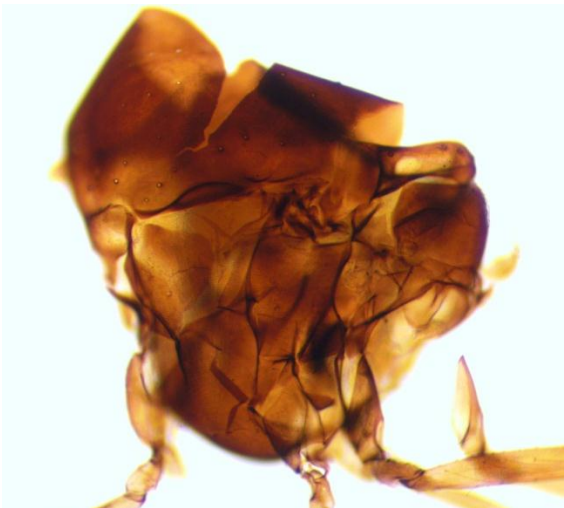
Dasyhelea scissurata



Cabeza y Antenas



Palpo: grado de fusión entre los segmentos, y tercer segmento con escasas sensilas largas.



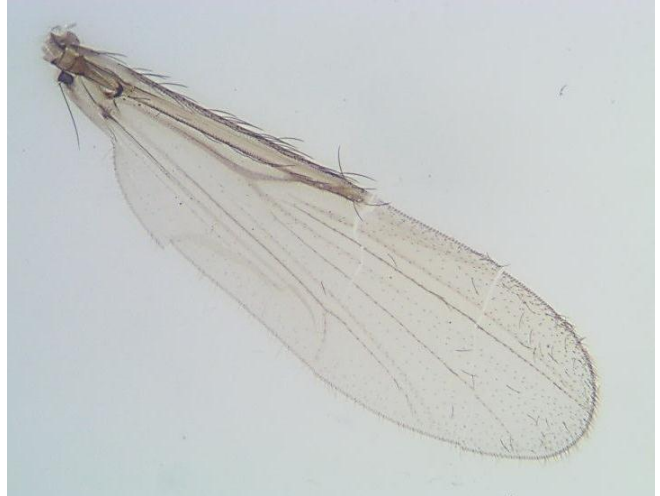
Tórax: diseño y coloración del escudo.



Pata: garra con empodio pobremente desarrollado.



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de un macho.



Ala: diseño de las venas y membrana con presencia de macrotrichia escasas.

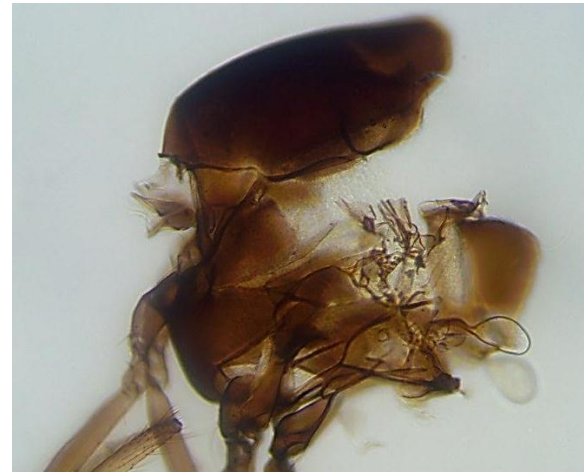
Dasyhelea sp



Cabeza y antenas.



Palpo: grado de fusión entre los segmentos, y tercer segmento con escasas sensilas largas.



Tórax: diseño y coloración del escudo.



Pata: garra con empodio pobremente desarrollado.



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de una hembra con presencia de una espermateca.



Ala: diseño de las venas y membrana con presencia de macrotrichia abundante.

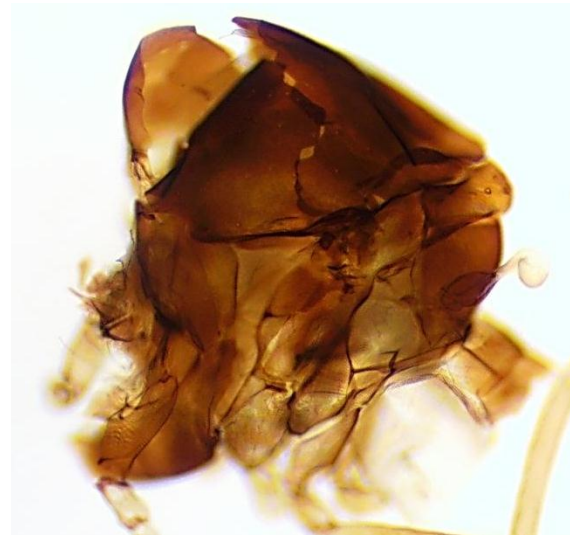
Dasyhelea cacaoi



Cabeza.



Palpo: grado de fusión entre los segmentos, y tercer segmento con escasas sensilas largas.



Tórax: diseño y coloración del escudo.



Pata: garra con empodio pobremente desarrollado.



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de un macho.



Ala: diseño de las venas y membrana con presencia de macrotrichia escasas.

Dasyhelea williamsi



Cabeza y antenas.



Palpo: grado de fusión entre los segmentos, y tercer segmento con escasas sensilas largas.



Tórax: diseño y coloración del escudo.



Pata: garra con empodio pobremente desarrollado.



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de un macho.



Ala: diseño de las venas y membrana con presencia de macrotrichia escasas.

Dasyhelea azteca



Cabeza y antenas.



Palpo: grado de fusión entre los segmentos, y tercer segmento con escasas sensilas largas.



Tórax: diseño y coloración del escudo.



Pata: garra con empodio pobremente desarrollado.



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de un macho.



Ala: diseño de las venas y membrana con presencia de macrotrichia escasas.

Dasyhelea cincta



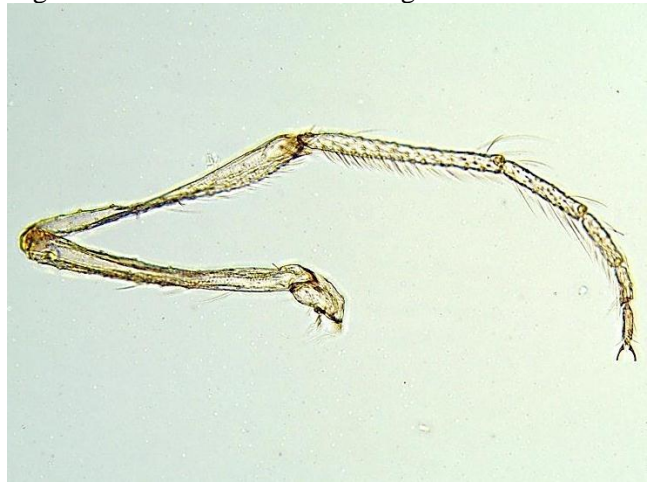
Cabeza.



Palpo: grado de fusión entre los segmentos, y tercer segmento con escasas sensilas largas.



Tórax: diseño y coloración del escudo.



Pata: garra con empodio pobremente desarrollado.



Abdomen: forma y diseño de la genitalia de un macho.



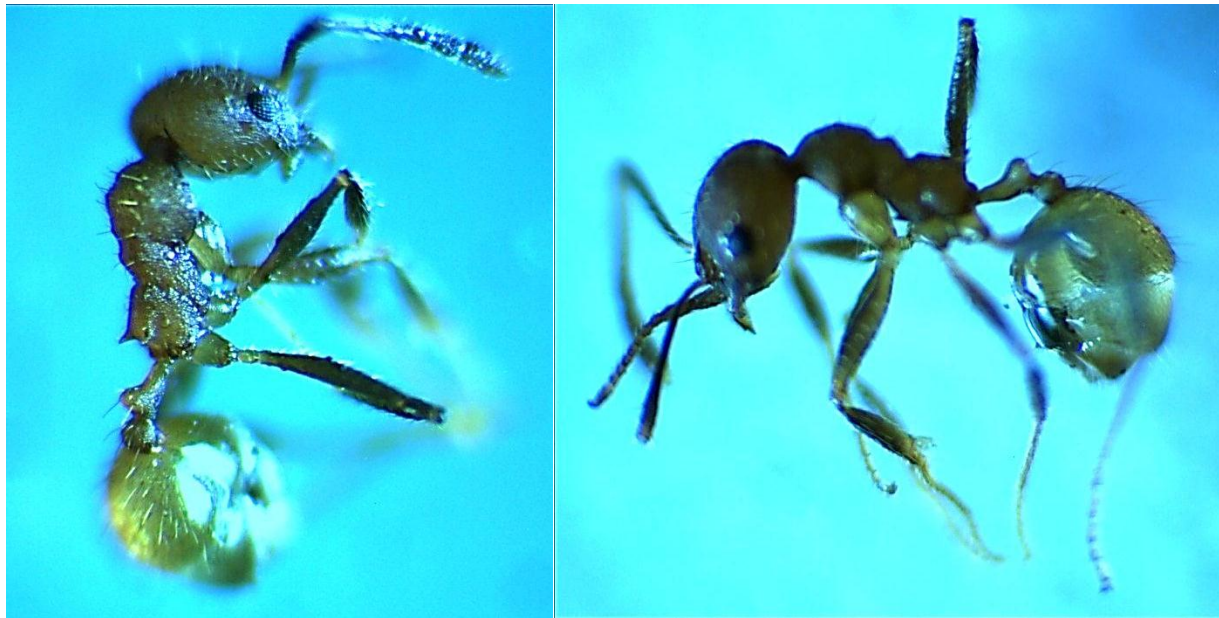
Ala: diseño de las venas y membrana con presencia de macrotrichia escasas.

Toxoptera aurantii



Vista frontal y lateral de espécimen.

Pheidole sp. westwood



Vista lateral de espécimen.

Frankliniella parvula



Vista frontal y lateral de espécimen.

Lestodiplosis sp.



Vista frontal y lateral de espécimen.

Clinodiplosis sp.



Vista lateral del espécimen.

ANEXO 5. HOJA DE CAMPO PARA EL CONTROL DE FRUTOS ABORTADOS Y FRUTOS CUAJADOS.

Fecha: _____.

Hora: _____.

Día.	Tratamiento uno: polinización natural.									Tratamiento dos: polinización mecánica.									
	VR			VA			VV			VR			VA			VV			
	A1	A2	A3	A ₁	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	
Observaciones																			

Descripción de abreviaturas:

VR: Variedad roja
 VA: Variedad amarilla
 VV: Variedad verde

A1:Árbol 1
 A2: Árbol 2
 A3: Árbol 3

