	Informe de Prácticas Profesionales como Opción de Grado	

CUANTIFICACIÓN DE ESPORAS COMO MÉTODO DE MONITOREO DE LA ENFERMEDAD PUDRICIÓN BASAL DEL ESTIPITE EN PALMA DE ACEITE (*Elaeis guineensis*).

PRESENTADO POR:

Ana María Gómez De La Rosa

Código:

2016111027

PRESENTADO A:
Rafael Enrique Haydar Márquez
Tutor de prácticas profesionales

Juan Manuel López Vázquez.
Jefe inmediato empresa

UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA

Fecha de entrega: 23/03/2023

Tabla de contenido.

1. PRESENTACIÓN 3
2. OBJETIVOS Y/O FUNCIONES 4
2.1. Funciones del practicante en la organización: 4
3. JUSTIFICACIÓN: 5
4. GENERALIDADES DE LA EMPRESA: 7
4.1 Reseña histórica. 7
4.2. Planeación estratégica de Cenipalma. 10
4.3. Estructura organizacional de Cenipalma. 11
4.4. Mapa de proceses Cenipalma. 12
5. SITUACIÓN ACTUAL. 13
6. BASES TEÓRICAS RELACIONADAS. 15
7. DESARROLLO DE ACTIVIDADES: 17
7.1. Calibración y manipulación de los equipos muestreadores Burkard. 17
7.2. Preparación, montaje y procesamiento de las cintas de impacto (Melinex), implementadas en los equipos para la captura de esporas. 19
7.2.1 Preparación de la cinta Melinex en los tambores bajo condiciones de laboratorio. 19
7.2.2 Montaje de los tambores en los equipos Burkard establecidos en campo. 21
7.2.3. Desmontaje de las cintas traídas de campo para su análisis microscópico. 22
7.3. Identificación y cuantificación de las estructuras de reproducción sexual del patógeno asociado a la pudrición basal del estípite en la zona norte (*Ganoderma Zonatum)* encontradas en las cintas durante los periodos de monitoreo 23
8. CRONOGRAMA: 25
9. CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS. 26
9.1 Conclusiones. 26
9.2 Líneas futuras. 27
10 BIBLIOGRAFÍA. 28
ANEXOS 30

1. PRESENTACIÓN

El presente documento contiene el trabajo realizado, durante el proceso prácticas como opción de grado e obtención del título de ingeniera agrónoma, desarrollado en la corporación centro de investigación en palma de aceite (Cenipalma), área de fitopatología, donde colabore activamente en el margen de ejecución del proyecto "Cuantificación de esporas como método de monitoreo de la enfermedad pudrición basal del estípite", mediante la utilización de los muestreadores volumétricos o equipos Burkard, el cual se llevó a cabo en el laboratorio de sanidad vegetal, ubicado en las instalaciones de la planta extractora Palmeras de la costa, El Copey, Cesar.

Actualmente no existen antecedentes de la utilización de los equipos Burkard, como herramienta de monitoreo de estructuras fúngicas aéreas, relacionadas con el agente causal de la enfermedad pudrición basal del estípite (PBS) en el cultivo de palma, por lo tanto fue necesario el conocimiento parcial de estos para su manipulación, desarrollándose las siguientes actividades; Calibración de los muestreadores volumétricos, preparación y procesamiento de las cintas de impacto (Melinex), implementadas para la captura de esporas, identificación y cuantificación de las estructuras de reproducción sexual del patógeno *Ganoderma Zonatum*, por lo anterior, durante mi etapa de prácticas, fue necesario desarrollar procesos metodológicos para la ejecución de cada una de estas, los cuales quedan plasmados en este informe, además de las técnicas que deja la experiencia en la manipulación de los equipos, que podrían servir como bases para futuras investigaciones.

2. OBJETIVOS Y/O FUNCIONES

2.1. Funciones del practicante en la organización:

Dentro de la Corporación centro de investigación de palma de Aceite (Cenipalma), me encuentro vinculada como estudiante pasante al proyecto de regalías del departamento del Cesar, "Tecnologías para la adaptación de la palma de Aceite al cambio climático" (TAPACC), donde apoyo en la realización de labores asociadas a una de las actividades del proyecto la cual recibe el nombre de "Evaluación de métodos de detección temprana y estrategias de manejo de las enfermedades más limitantes del cultivo de la palma de aceite asociadas con las variaciones del clima "específicamente en la Subactividad, "cuantificación de esporas como método de monitoreo de la enfermedad Pudrición basal del estípite, mediante la utilización de equipos muestreadores volumétricos de aire (Burkard), para la cual es necesario desarrollar las siguientes labores.

- ✓ Calibración y manipulación del atrapa esporas o muestreador volumétricos (Equipo Burkard).
- ✓ Preparación y procesamiento de las cintas de impacto (Melinex), implementadas en los equipos para la captura de esporas.
- ✓ Identificación y cuantificación de las estructuras de reproducción sexual del patógeno asociado a la pudrición basal del estípite en la zona norte (*Ganoderma Zonatum)* encontradas en las cintas durante los periodos de monitoreo, mediante el uso del microscopio a 40X**.**

3. JUSTIFICACIÓN:

La vinculación como estudiante de prácticas a la Corporación centro de investigación en palma de aceite (Cenipalma), sin duda es un proceso constructivo y enriquecedor, permitiendo que el estudiante ponga en práctica sus conocimientos desarrollados durante formación académica en el campus, de igual forma, permite que este potencialice habilidades tales como; Trabajo en equipo, liderazgo, optimización del tiempo laboral, planificación oportuna de actividades a realizar etc. Además de adquirir nuevos conocimientos en su área de trabajo. Por ende, mi participación en el grupo de trabajo de Cenipalma, programa de fitopatología es esa oportunidad que hace posible mi primer acercamiento al mundo laboral, como profesional donde apoyo con mis habilidades, empeño y entusiasmo en uno de los trabajos de investigación ejecutados por la empresa.

Como se sabe la palmicultura colombiana constituye una de las principales fuentes de ingreso convirtiéndolo en el cuarto país con mayor producción a nivel mundial (Fedepalma, 2021), aportando desarrollo económico, cultural y social en los diversos municipios donde la palma de aceite es la principal actividad agrícola, de esta forma el cultivo de palma aporta el 9,5% del PIB del sector agropecuario (Fedepalma, 2022). Sin embargo durante los últimos años problemas fitosanitarios ocasionado por diversas plagas y enfermedades han venido afectando el cultivo poniendo en riesgo su sostenibilidad, lo que obliga al centro de investigación a generar nuevos conocimientos y herramientas mediante la investigación científica que ayuden mitigar dichas problemáticas, como es el caso de la introducción de equipos muestradores volumétricos en el cultivo de palma por primera vez en Colombia, para

monitorear la dispersión aérea de estructuras reproductivas del agente causal asociado a la pudrición basal del estípite, enfermedad limitante del cultivo y así estudiar y entender su dinámica, facilitando el establecimiento de estrategias en su manejo, de este modo se hace necesario que la empresa incorpore pasantes que colaboren en las múltiples actividades que esto conlleva, lo que hace pertinente mi participación en dicha investigación donde coopero en los procesos de manipulación de equipos, lo que incluye, calibración, preparación y procesamiento de las cintas de impacto.

Por lo tanto, esta experiencia no solo me permite aportar mis habilidades si no también conocer más a fondo una de las enfermedades más limitantes de la palma de aceite en la zona Norte y las nuevas tecnologías aplicadas por parte del centro de investigación para estudiarla.

4. GENERALIDADES DE LA EMPRESA:

4.1 Reseña histórica.

La Corporación centro de investigación en palma de aceite (CENIPALMA), es una corporación de carácter científico y técnico sin fines de lucro creada a raíz de las decisiones del XVIII congreso nacional de cultivadores de palma de Aceite el 21 de septiembre 1990, debido que a finales de la década del ochenta, cuando en el país se contaba con aproximadamente 100.000 hectáreas sembradas de palma de aceite, se incrementaron problemas tecnológicos del cultivo, especialmente los relacionado a la presencia de múltiples plagas y enfermedades, por ende se hizo necesario el desarrollo de una línea propia de investigación en palma de aceite (Cenipalma 2022), creándose así dicha corporación la cual inició su vida jurídica el 1 de enero de 1990, el accionar de Cenipalma está relacionado con el sector palmero colombiano y con la Federación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite (FEDEPALMA), de esta forma se trabaja con los porcicultores para la obtención de mejores resultado y servicios que el sector requiere, aportando conocimientos en las área de sanidad vegetal, productividad y sostenibilidad de la palmicultura por medio de la investigación, así mismo es fuente de insumos y guías para el mejoramiento de prácticas agrícolas asociadas al cultivo (Cenipalma 2022). Las oficinas principales de Cenipalma se ubican en el Centro empresarial Pontevedra en la Calle 98 No. 70-91, piso 14 Bogotá D.C, además de contar con cuatro campos experimentales en cada zona palmera del país los cuales son:

1. Palmar de la Vizcaína (CEPV). Ubicado la zona central, km 32 Vía la Lizama, corregimiento Peroles, Troncal del Magdalena Medio (Barrancabermeja, Santander), siendo su enfoque principal es el mejoramiento genético. El CEPV ha permitido al sector de la agroindustria de la palma de aceite colombiano el establecimiento y caracterización del primer banco de germoplasma de *Elaeis guineensis* y *Elaeis oleifera*, con el propósito de conservar y de estudiar la diversidad genética de la palma de aceite para el desarrollo de nuevos cultivos en beneficio del sector.
2. Palmar de las Corocoras (CEPC). Ubicado en la zona oriental, km 5 Vía Paratebueno-Cabuyaro, municipio de Paratebueno, Cundinamarca. Donde su enfoque principal son proyectos de investigación con énfasis en Agronomía y Plantas de Procesamiento de Aceite de Palma.
3. Finca Experimental La Providencia. Ubicada en la zona suroccidental, km 4 desde Tangareal, en la Vía Tumaco, Pasto por la carretera hacia lmbilí-Río Mira (Tumaco, Nariño). Siendo su enfoque principal los proyectos de investigación con énfasis en Plagas y enfermedades.
4. Palmar de la Sierra (CEPS). Ubicado en la zona norte, km 64 Vía Santa Marta - Fundación, Troncal de Oriente, municipio de Zona Bananera, Magdalena. Donde su enfoque principal son los proyectos de investigación con énfasis en el uso eficiente del recurso hídrico. Siendo esta la zona palmera a la cual me encuentro vinculada como estudiante pasante, en el marco del proyecto “Tecnologías para la adaptación de la palma de Aceite al cambio climático” (TAPACC). Ejerciendo mis actividades

en el laboratorio de sanidad vegetal, ubicado en las instalaciones de la planta extractora Palmeras de la costa S.A, El copey, Cesar.

Como se puede evidenciar Cenipalma es una corporación que cuenta con un amplio campo de investigación en el sector palmero, la cual ha hecho aportes significativos para la optimización de prácticas agrícolas, nutrición, manejo de problemas fitosanitarios, etc. Dentro de los aportes científicos más relevantes que ha generado Cenipalma al sector palmero se pueden mencionar los siguientes:

- ✓ Identificación del agente causal de la Pudrición del cogollo en palma de aceite *(Elaeis guineensis)*, enfermedad considerada como el mayor problema fitosanitario que afectó y sigue afectando el cultivo, ocasionando grandes pérdidas económicas.
- ✓ Establecimiento de una colección biológica de materiales de *E.guinensis* y *E.oleifera*;
- ✓ Confirmación que *Haplaxius crudus* es el insecto vector responsable de diseminar el patógeno que causa Marchitez letal (ML).
- ✓ Desarrollo y ajuste de la tecnología de cultivo de tejidos (clonación) y fortalecimiento del laboratorio con capacidad de 150.000 plantas anuales.
- ✓ Técnicas moleculares, de mayor rapidez, precisión y reproducibilidad, para la detección e identificación de los agentes causales de las enfermedades.

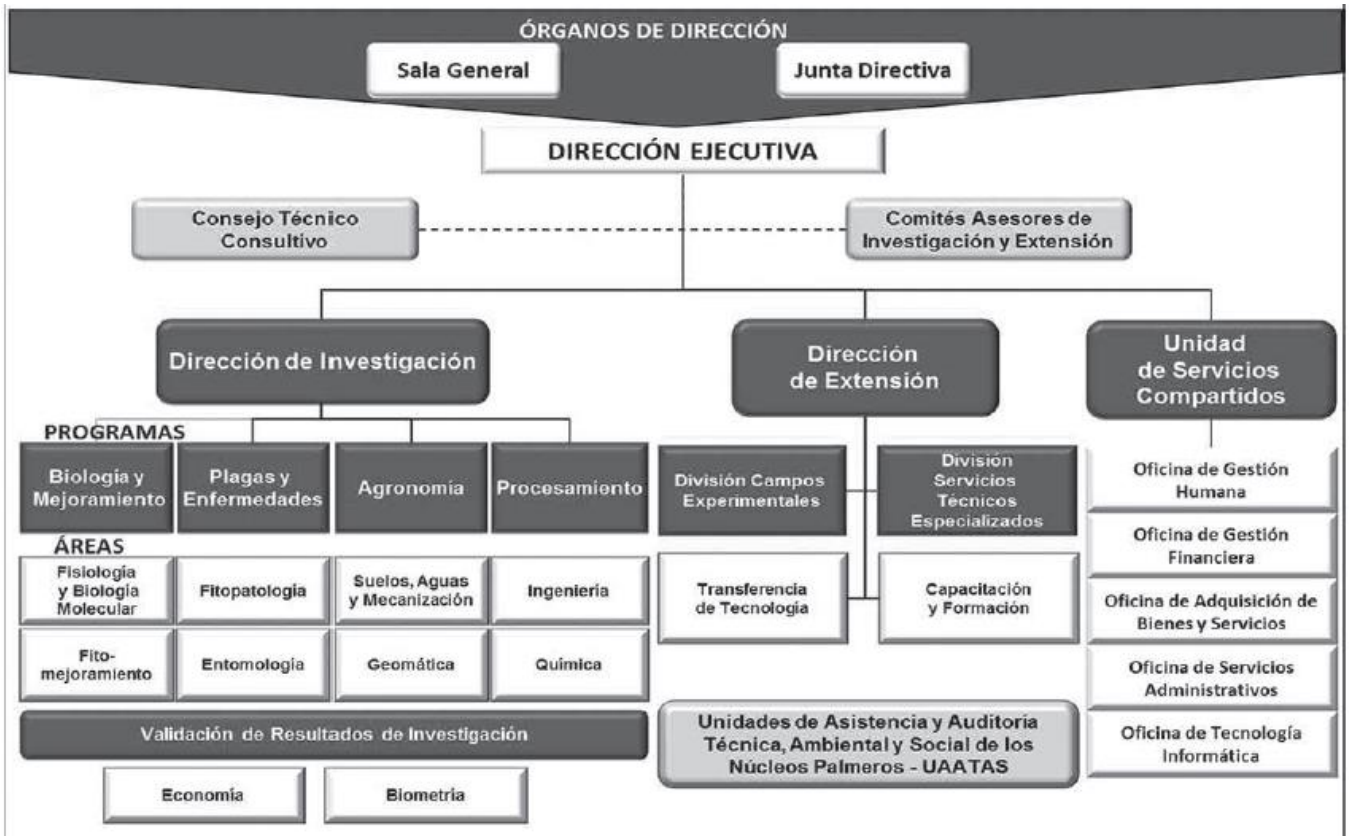
De esta forma Cenipalma hasta el 2021 había publicado sus resultados de investigación en 425 artículos científicos, 68 libros de divulgación de resultados y 192 Ceniavances, (Sarmiento Gómez, M. E. 2021).

4.2. Planeación estratégica de la Corporación centro de investigación en palma de aceite.

Misión: Generar, adaptar, validar y transferir conocimientos y tecnologías que contribuyan a la sanidad del cultivo y a la productividad, sostenibilidad y competitividad de la agroindustria de la palma de aceite.

Visión: Cenipalma es un centro de investigación líder, de excelencia, reconocido nacional e internacionalmente, con enfoque estratégico y prospectivo, dedicado a la generación y transferencia de tecnologías, procesos y productos de interés para el sector palmero colombiano.

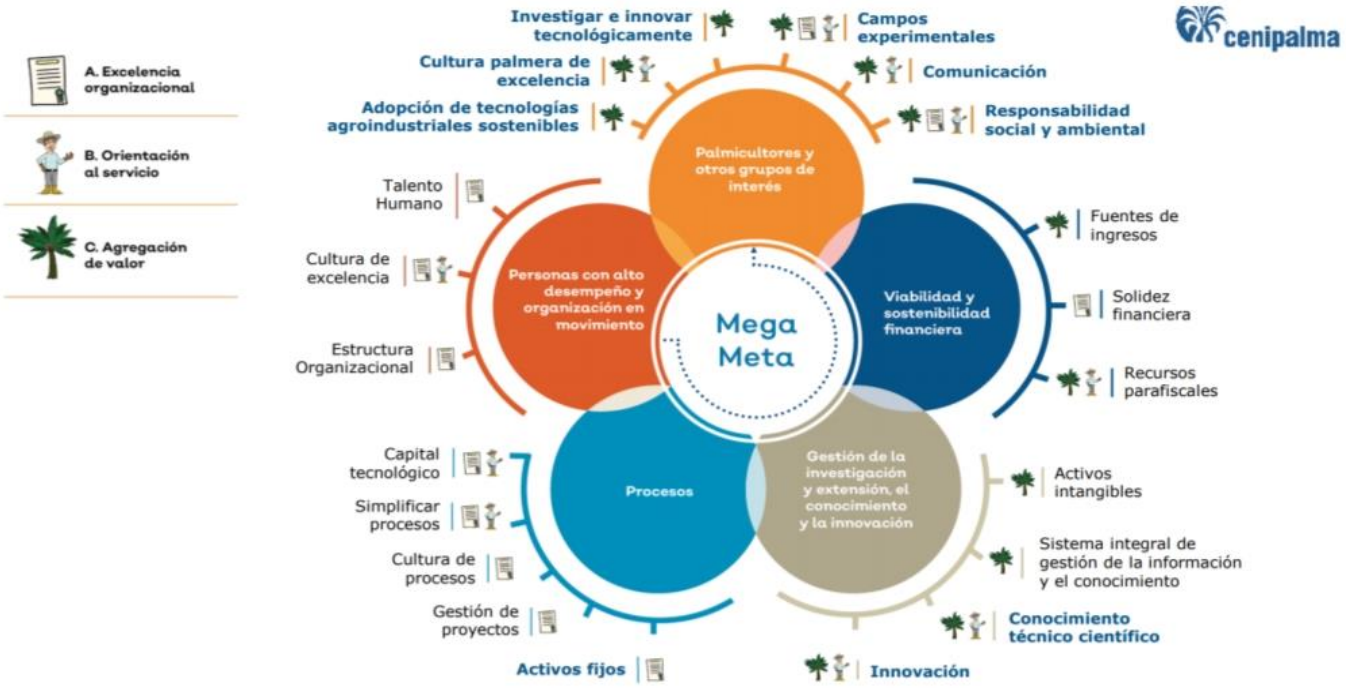
4.3. Estructura organizacional de Cenipalma.



(*Cenipalma, 2013*).

Para el 2021 Cenipalma contaba con 316 empleados donde el 40% de estos son mujeres y el 60% hombres, los cuales se encuentran distribuidos de la siguiente manera: 143 persona hacen parte de la dirección de investigación, 87 en la dirección de extensión, 29 dirección de servicios compartidos, 27 de la unidad de campo experimentales, 23 en Tecnopalma, 4 en la unidad de representación y coordinación gremial y 4 en la dirección general, (Sarmiento Gómez, M. E. 2021). Además de los estudiantes pasantes y aprendices del Sena que apoyan las diversas actividades.

4.4. Mapa de proceses Cenipalma.



(Cenipalma, 2019)

Así Cenipalma enfoca sus labores y productos a suplir las necesidades del sector palmero, mediante la investigación, tecnología e innovación.

5. SITUACIÓN ACTUAL.

Cenipalma como centro de investigación está orientado a desarrollar avances científicos que ayuden a mitigar las principales problemáticas del cultivo de palma, dentro de ellos los fitosanitarios, que actualmente ocasionan grandes pérdidas económicas, uno de estos es la pudrición basal del estípite, el cual se caracteriza por causar la descomposición de los tejidos de la base del estipe, de forma lenta pero letal, actualmente se ha identificado a *Ganoderma Zonatum* como agente causal de la enfermedad en Colombia (Castillo, S. y e tal 2022). Las estructuras reproductivas que caracterizan a este hongo son sus basidiocarpos, estos en la superficie inferior poseen un sin número de poros donde se forman millones de basidiósporas (Esporas reproductivas) que son liberadas al ambiente, se estima que son la principal fuente de inóculo gracias a su fácil dispersión por acción del viento, sin embargo son inadecuadas para iniciar infecciones sobre tejidos de palmas activas, por ende no se ha comprendido en su totalidad el mecanismo de dispersión e infección de la enfermedad dentro del cultivo (Bharudin et al, 2022), se ha establecido que la diseminación de la enfermedad se da mediante el contacto de raíces de plantas enfermas y sanas, por lo tanto monitorear el comportamiento de las basiodiosporas y su dispersión aérea dentro del lote en estudio es clave para entender la dinámica de la enfermedad, utilizándose para esto los equipos muestreadores Burkard, actividad que apoye durante la estadía en la empresa.

Por lo tanto, al momento de iniciar mis prácticas profesionales y ejecución de actividades las cuales se llevaron a cabo en el laboratorio de sanidad vegetal ubicado en las instalaciones de la planta extractora palmeras de la costa 10°06'06.0"N 74°00'41.8"W El Copey, Cesar, me

encuentro con la situación que no hay antecedentes de la utilización de estos equipos para monitorear estructuras fúngicas en el cultivo de palma, convirtiéndose en un reto para mí, haciéndose necesario desarrollar metodologías y técnicas adquiridas a través de la experiencia para su correcta manipulación, las cuales quedan plasmadas en el presente documento.

6. BASES TEÓRICAS RELACIONADAS.

Las áreas temáticas aprendidas en el campus universitario y que sirvieron como bases teóricas para el desarrollo de las actividades asignadas durante el proceso de prácticas, facilitando su comprensión y ejecución fueron las siguientes:

Microbiología: Como se sabe la microbiología es la ciencia que encarga del estudio de los microorganismos, en cuanto a sus características morfológicas, fisiológicas, nutricionales y genéticas (Reynoso, 2015), además, de su clasificación y distribución, en ese sentido, la microbiología permite conocer las formas de vida de aquellos organismos que no son perceptibles al ojo humano, pero que son fundamentales en el curso de la naturaleza y de la agricultura misma, los cuales pueden comportarse como saprofitos, simbiontes o parásitos, siendo estos últimos los que ejercen una acción negativamente en la agricultura, responsables de las enfermedades de los cultivos. De esta forma, esta área me facilito el reconocimiento morfológico de las estructuras de reproducción sexual (Basiodiosporas) del agente causal de la enfermedad pudrición basal de estípite, enfermedad limitantes de la palma de aceite, lográndose con éxito la identificación y cuantificación de las esporas de *Ganoderma zonatum*, así mismo gracias a las prácticas de laboratorio realizadas en el campus universitario, se facilitó la manipulación del microscopio el cual fue la herramienta principal de mi trabajo durante las prácticas,

Fitopatología: Los conocimientos sobre esta área de estudio que incluye bases teóricas de fisiología vegetal, química, genética, meteorología, botánica, microbiología entre otras ramas de la ciencia, me permitieron comprender a fondo la dinámica de la enfermedad,

pudrición basal del estípite (PBS) en el cultivo de palma, conociendo que existen una serie de factores bióticos y abióticos que facilitan el desarrollo de esta en campo, convirtiéndose en una problemática de importancia económica para el sector palmero, dentro de estos abióticos encontramos las condiciones ambientales, como humedad relativa, temperatura, precipitación, velocidad del viento etc. Siendo este último, el principal factor que permitió llevar a cabo el estudio desarrollado por la empresa y el cual apoye, y así establecer la capacidad de dispersión aérea por acción del viento de las estructuras de reproducción sexual del patógeno causante de dicha enfermedad, generando conocimientos para el desarrollo futuro de estrategias en el manejo de PBS.

Estadística: La estadística sin duda es una de las áreas de conocimientos matemáticos de gran utilidad en cualquier estudio, mediante el uso del software estadístico EXEL, se facilitó el análisis de los datos resultantes del conteo de esporas, aplicando diversas técnicas aprendidas en la formación académica, como la elaboración de tablas dinámicas y representaciones visuales de los datos, haciendo posible el procesamiento, análisis e interpretación de la información arrojada en el conteo, lográndose con éxito la ejecución de los informes entregados mensualmente al jefe inmediato.

7. DESARROLLO DE ACTIVIDADES:

7.1. Calibración y manipulación de los equipos muestreadores Burkard.

Para la ejecución del proyecto y por ende acompañamiento en las actividades propias de este, la empresa instalo 4 equipos Burkard en una torre metálica a diferentes alturas cada uno, de tal forma que el equipo 1 se encuentra a 0.80m del suelo, equipo 2 a 2.82m, equipo 3 a 4.82m y equipo 4 a 7.85m (*figura 1),* en el lote 2005-4 con coordenadas 10°07'36,413"N y 074°02'46.769"W, con un área total 15,5 Hectáreas, plantación que hace parte de la planta extractora Palmeras de la costa, Copey cesar *(Figura 2*), el mencionado lote está conformado por plantas de 18 años, en el cual se presenta una alta incidencia de la enfermedad pudrición basal de estípite, según los registros sanitarios que lleva la extractora, convirtiéndose en un sitio estratégico para llevar a cabo el estudio con los atrapa esporas . Estos equipos Burkard son muestreadores de impacto por succión, el primer equipo de este tipo fue propuesto en 1952 por el Dr. James Hirst, patólogo de plantas en la Estación Experimental de Rothamstead en Inglaterra. (Laboratorio de Palinología Universidad de Murcia, 1991), por tal razón se conocen como captadores tipo Hirst, los cuales están diseñados para monitorear estructuras fúngicas (Esporas) y polen que se encuentran en el aire en función del tiempo, convirtiéndolo en un dispositivo eficiente para cuantificar la concentración atmosférica de esporas y así establecer el potencial de diseminación del patógeno en estudio por vía aérea, gracias a su mecanismo funcional el cual consta básicamente de cuatro unidades. (*Figura 3a y 3b).*

- ✓ **Bomba de vacío**.
- ✓ **Sistema cronométrico**.

- ✓ **Hendidura de impacto.**
- ✓ **Veleta.**

De esta forma el equipo está constituido por una bomba de succión situada en la base alimentada de una fuente eléctrica, por ende se aspira volúmenes constantes y continuos de aire, el cual entra por un orificio o hendidura de impacto con dimensiones de 14 mm de largo X 2mm de ancho, orientado siempre a la dirección del viento debido a la acción de la veleta, de tal manera que el flujo de aire que entra por el orificio se impacta en un sistema cronométrico conformado por un cabezal, donde se inserta un tambor que gira a razón de 2mm/hora a favor de las manecillas del reloj, diseñado para permanecer 7 días en movimiento, sobre el que se fija una cinta flexible transparente (Melinex) con longitud de 345 mm aproximadamente, impregnada de una sustancia adhesiva, logrando que las partículas impactadas se adhieren sobre está a medida que avanza haciéndose posible la cuantificación de esporas en función del tiempo. Una vez cumplido el periodo de monitoreo mencionado se extrae el tambor, se retira la cinta y se fracciona en 7 segmentos de 48 mm, los cuales representan los días anteriores, estos se preparan para su respectivo análisis microscópico.

Dicho lo anterior y teniendo en cuenta que actualmente no hay registro de su implementación en el cultivo de palma de aceite para monitorear la diseminación aérea de las estructuras reproductivas de *Ganoderma Zonatum* fue necesario, estudiar y conocer el funcionamiento total del equipo, las medidas a tener en cuenta a la hora de su manipulación (calibración, limpieza, activación correcta del sistema cronométrico, preparación de la cinta

para su traslado a campo y procesamiento de la cinta traída de campo). Una vez estudiado su funcionamiento se capacita al auxiliar de campo encargado del cambio de tambores, además de hacerle acompañamiento al lote donde se ubican los equipos cada vez que realiza el cambio de estos, garantizando que se hagan todos los procesos de forma correcta. *(Figura 4).*

7.2. Preparación, montaje y procesamiento de las cintas de impacto (Melinex), implementadas en los equipos para la captura de esporas.

El sistema cronométrico de los equipos está diseñado para durar 7 días en movimiento, una vez cumplido el periodo el reloj se detiene, por ende, semanalmente se debe hacer el cambio de la cintas e inicio de un nuevo ciclo de monitoreo. Estas se realizaban todos los martes de 8:00 a 9:00am lapso donde se apagan los equipos y se inicia todo el proceso. Para lo cual es necesario realizar los siguientes procedimientos.

7.2.1. Preparación de la cinta Melinex en los tambores bajo condiciones de laboratorio.

El proceso de preparación de los tambores se lleva a cabo en la cámara de flujo laminar teniendo en cuenta las normas de asepsia, desinfectándose con alcohol al 70% la cámara de flujo laminar y herramientas a utilizar; Tambores, brochas, pinzas y el soporte del tambor *(Figura 5).* Una vez realizada la limpieza se procede a hacer lo siguiente.

1. **Montaje de la cinta Melinex al tambor:** En primer lugar se ubica el tambor en el soporte para facilitar la manipulación de este (Figura 6a),seguido se deposita un trozo pequeño de cinta doble faz entre las líneas negras del tambor (*figura 6b*), posterior,

se adhiere con ayuda de unas pinzas el extremo de la cinta Melinex en la mitad de la cinta doble faz (*figura 6c*), enrollando la cinta en todo el tambor, asegurándose que esta se encuentre ajustada en el centro de la superficie y finalmente se pega el extremo restante de la cinta Melinex en el resto de la cinta doble faz, con ayuda de un bisturí se corta la cinta Melinex (*figura 6d*).

2. **Aplicación del adhesivo:** Como sustancia adhesiva se utiliza vaselina liquida, la cual tiene una buena capacidad de retención de las esporas evitando su rebote al igual que se logra una película bien fina sobre la cinta por ende no se afecta la visibilidad de las basiodiosporas para su análisis microscópico, además de ser insoluble en agua evitándose el lavado de estas. Para cambiar el estado sólido de la vaselina a líquido, se deposita en un Beaker 4gr y se lleva a la plancha calentadora por 3 min (*Figura 7a).* Posteriormente con una brocha de fibra fina se aplica la vaselina a la cinta Melinex, para esto se sumerge la brocha parcialmente en la vaselina liquida y se limpia el exceso con papel absorbente (*figura 7b*), de tal forma, que no quede sobrecargada del adherente, para luego extenderla en el centro de la cinta mientras se gira el tambor dando una sola pasada de forma cuidadosa (*figura 7c*). En total se preparan 4 tambores. Una vez preparados estos se guardan en los porta tambores y se trasladan a campo para el montaje, (*figura 7d*).

7.2.2. Montaje de los tambores en los equipos Burkard establecidos en campo.

Para la ejecución del montaje, es necesario realizar los siguientes procedimientos.

1. **Montaje de los tambores en el BURKARD:** En primera instancia se procede a realizar la limpieza de cada contenedor y boquilla de los equipos ubicados en el lote 2005-4, con ayuda de palillos de cartulina, papel absorbente y alcohol al 70% (*Figura 8*). Para esto se extrae el cabezal del equipo presionando el brazo de bloqueo hacia abajo y se gira 180 grados, tirando del cabezal hacia arriba., retirando el tambor a sustituir.
2. **Activación del sistema cronométrico:** Una vez realizada la limpieza se lleva a cabo la activación del reloj o sistema cronométrico, para lo cual se introduce la llave de activación en el sistema, girándola en sentido anti horario (*figura 9a*) hasta alcanzar un total de 16 giros completos, seguido se inserta el tambor preparado anteriormente en el cabezal con mucho cuidado, se gira y alinea la flecha de metal con la línea roja del tambor (*figura 9b*) y se asegura con el perno, luego se inserta el cabezal en el contenedor y se cierra herméticamente el equipo con el brazo de cierre ((*Figura 9c*). Quedando los equipos listos para su encendido y calibración.
3. **Calibración:** Para llevar a cabo la calibración se utiliza un flujometro, el cual se coloca en el orificio de impacto y se regula la succión a 10 Lt/min (*figura 10*), según el mecanismo del equipo, ya sea por el tornillo interno o botón de calibración.
4. **Marcaje del inicio del conteo:** Finalmente se marca el momento exacto en el que se inicia el ciclo de monitoreo, para lo cual se utiliza un alfiler, introduciéndolo por el

orificio de impacto de tal forma que se cree una línea que identifique el inicio del conteo para el día uno, *(Figura 11).* Las actividades correspondientes a la 7.2.1 y 7.2.2, deben tardarse únicamente una hora, de tal forma que se respete la hora de encendido que es alas 9:00am, realizándose el mismo todos los martes.

7.2.3. Desmontaje de las cintas traídas de campo para su análisis microscópico.

Culminado el ciclo de los 7 días de monitoreo en campo, los tambores son trasladados al laboratorio en sus respectivos porta tambor e iniciar el desmontaje, para lo cual se ejecutan los siguientes procesos.

1. **Desmontaje de la cinta del tambor:** Se extrae el tambor del porta tambor y se coloca sobre el soporte, se identifica el inicio de la cinta y con ayuda de un bisturí y pinzas se procede a retirar la cinta del tambor (Figura *12).* Todo esto en la cámara de flujo laminar, con todas las condiciones de higiene.

2. **Seccionamiento de la cinta por día:** Una vez despegada la cinta del tambor esta se deposita en una regla de metacrilato, la cual consta de 8 divisiones de 48mm y cada división a su vez está compuesta por 24 líneas separadas entre sí 2mm, las cuales representan los días y las horas del día respectivamente *(figura13a),* entendiéndose que en campo el sistema cronométrico de los equipos giran 2mm cada hora durante 7dias seguidos de esta forma la regla permite la ubicación exacta de las horas y días de monitoreo. Una vez que se fije la cinta a la hora programada del encendido, teniendo en cuenta las líneas de la regla, esta se asegura con el accesorio, con ayuda

de una pinza y un bisturí se procede a cortar la cinta en secciones correspondientes a un día, obteniéndose de esta forma 7 secciones de 48mm *(Figura 13b).*

3. **Preparación de placas:** Con anticipación se preparan 7 portaobjetos, a los cuales se les realizan 24 líneas verticalmente separadas 2mm entre sí, para esto se utiliza la regla de metacrilato para el corte de cintas como base y con de una micropunta de color negro se dibujan las líneas sobre el portaobjeto, posterior se rotula cada placa de acuerdo con la fecha y numero del equipo *(Figura 14a).* Una vez listas las cintas cortadas a cada portaobjeto se le agrega una línea de Gelvatol diluido al 10% horizontalmente, se deja secar por unos segundos (*Figura 14b*), seguido se deposita en cada placa el segmento de cinta correspondiente al día marcado. (*Figura 14c*)
4. **Almacenamiento:** Cada placa se guarda en una caja de Petri, para evitar que se altere la muestra. (*Figura15).*

7.3. Identificación y cuantificación de las estructuras de reproducción sexual del patógeno asociado a la pudrición basal del estípite en la zona norte (*Ganoderma Zonatum)* encontradas en las cintas durante los periodos de monitoreo.

Para la identificación y posterior conteo de basiodiosporas de *Ganoderma Zonatum*, se tiene en cuenta sus características morfológicas, las cuales según los autores (*Gottlieb, 1999,* Suarez, et al, 2012 & Rojas, et al, 2018). Presentan los siguientes caracteres: Forma elipsoide de 10 µm aproximadamente, color amarillento o anaranjado, ápice truncado, exosporio con pilares interparietales *(Figura 16a).* Para la realización del análisis microscópico, en primera

instancia se ubica la hora 0:00 con el microscopio a 10x , donde se inicia el conteo, seguido se pasa a 40x haciéndose un recorrido por toda la placa de línea en línea (Figura 16b), registrándose el número de estructuras sexuales de *G. zonatum* visualizadas en cada hora, durante el monitoreo del presente periodo se logró analizar 16.128 horas en total, es decir 4.032 horas por cada uno de los 4 equipos ubicados en campo, lo cual corresponde a 24 semanas de monitoreo, dichos datos son registrados en el formato de conteo y base de datos *(Figura 17).* Además, del conteo de esporas se llevó a cabo un registro fotográfico de las estructuras fúngicas visualizadas en las cintas cada 6 horas, es decir a las 02:00, 07:00, 12:00, 17:00 y 22:00 horas, con el fin de guardar evidencia del trabajo realizado y recolectar información para futuras investigaciones sobre la comunidad fúngica presente en el cultivo de palma de aceite.

8. CRONOGRAMA:

A continuación, se observa el cronograma de actividades, realizadas durante el periodo de prácticas el cual consta de 25 semanas consecutivas que van del 04-10-2022 hasta el 04-04-2023, ejecutadas en las instalaciones de la extractora Palmeras de la costa (Copey, Cesar).

ACTIVIDADES	MESES-SEMANAS																											
	Oct				Nov				Dic				Ene				Feb				Mar				Abr			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1-Calibración y manipulación de los equipos Burkard.																												
2-Preparacion de las cintas Melinex en los tambores.																												
3-Montaje de los tambores en los equipos Burkard.																												
4-Desmontaje de las cintas traídas de campo.																												
5-Identificacion y cuantificación de basiodiosporas.																												
5-Registro fotográfico.																												

Tabla 1. Cronograma de actividades desarrolladas durante las prácticas.

9.CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS.

9.1 Conclusiones.

Se logro llevar a cabo el periodo de prácticas profesionales como opción de grado en la empresa Corporación centro de investigación en palma de aceite (Cenipalma), área de fitopatología, realizando con éxito cada una de las actividades asignadas, dicha experiencia me permitió adquirir conocimientos en la manipulación de muestreadores volumétricos o equipos Burkard, utilizados por primera vez en Colombia en el cultivo de palma de aceite como herramienta de monitoreo en la dispersión aérea del agente causal de una de las enfermedades limitantes del cultivo, como lo es la pudrición basal del estípite, para lo cual fue necesario la aplicación de bases teóricas y prácticas adquiridas durante la formación académica en las diferentes asignaturas, especialmente el campo de estudio de la microbiología fue de gran utilidad para la identificación de las estructuras reproductivas del patógeno *Ganoderma Zonatum* en las cintas de impacto y poder realizar el conteo de estas.

Por otra parte es importante resaltar algunas de las dificultades presentadas en algún momento en la ejecución de las actividades, sin embargo no fueron impedimentos para su cumplimiento satisfactoriamente, dentro de estas, se destaca la dificultad para la identificación de las basiodiosporas debido a que en el ambiente se presentan numerosas estructuras muy similares que pueden confundirse, por ende se debe ser muy riguroso, tener claridad sobre las características morfológicas del patógeno en cuestión a la hora de realizar el conteo. En cuanto a la manipulación del equipo se llevó tiempo en perfeccionar las técnicas

utilizadas para la preparación de los tambores, aplicación de la vaselina y corte de la cinta, ya que no existe antecedentes de la utilización del equipo en el cultivo.

9.2 Líneas futuras.

Como se ha mencionado en numerosas ocasiones, la utilización de los equipos Burkard como estrategia de monitoreo de enfermedades en el cultivo de palma, es algo novedoso, lo cual marca el punto de partida para la implementación de este tipo de herramientas tecnológicas no solo en palma de aceite si no en otros cultivos de importancia económica, por ende las técnicas desarrolladas sobre la manipulación de los muestreadores y que han sido plasmadas en el presente documento, podrían servir como bases para futuras investigaciones. Otro aspecto a tener en cuenta y que deja la experiencia en la utilización de estos equipos es la importancia de desarrollar programas o software que logren el reconocimiento de imágenes especificas o en este caso estructuras fúngicas, de tal forma que la cuantificación de esporas impactadas en las cintas sea por medio de esta tecnología, disminuyendo el tiempo que se lleva el conteo, además de facilitar el proceso ya que es muy tedioso realizarlo de forma manual.

10 BIBLIOGRAFÍA.

Castillo, S. Y., Rodríguez, M. C., González, L. F., Zúñiga, L. F., Mestizo, Y. A., Medina, H. C. & Sarria, G. A. (2022). *Ganoderma zonatum Is the Causal Agent of Basal Stem Rot in Oil Palm in Colombia. Journal of Fungi*, *8*(3), 230.

Bharudin, I., Ab Wahab, A. F. F., Abd Samad, M. A., Xin Yie, N., Zairun, M. A., Abu Bakar, F. D., & Abdul Murad, A. M. (2022). *Review Update on the Life Cycle, Plant–Microbe Interaction, Genomics, Detection and Control Strategies of the Oil Palm Pathogen Ganoderma boninense. Biology*, *11*(2), 251.

Cenipalma. *(2013). Cenipalma 2013 Informe de Labores. Informe de Labores, 1–192.*

Cenipalma. (2022). *Corporación centro de investigación en palma de aceite*. Recuperado a partir de. https://www.cenipalma.org/que-es-cenipalma.

Fedepalma. (2021). *La palma de aceite en Colombia [2021]*. Recuperado a partir de. Fedepalma.https://repositorio.fedepalma.org/handle/123456789/141268#page

Fedepalma. (2022). *Entorno económico y desempeño del sector palmero en 2021 y perspectivas 2022.* Pg, 22 Recuperado a partir de. https://web.fedepalma.org/sites/default/files/files/4D1_Entorno_economico_2021_2022.pdf

Gottlieb, A. M., & Wright, J. E. (1999). *Taxonomy of Ganoderma from southern South America*: subgenus Ganoderma. Mycological Research, 103(6), 661-673.

Laboratorio de Palinología Universidad de Murcia. (1991). *Burkard spore trap - Manejo*. Pg 1–14.

Reynoso, M., Magnoli, C., Barros, G., & Demo, M. (2015). *Manual de microbiología general.*

Rojas, T. I., & Daylenis, P. Ã. (2018). *AerobiologÃa de Ganoderma en la atmÃ³sfera de La Habana, Cuba, durante cuatro aÃ±os de estudio*. Revista Cubana de Medicina Tropical, 70(2).

Sarmiento Gómez, M. E. (2021). 30 años: *Pasado, presente y futuro de Cenipalma*. Revista Palmas, 41(4), 67-73. Recuperado a partir de https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/13352

Suárez-Medellín, J., Luna-Rodríguez, M., Mendoza, G., Salinas, A., Suárez Quiroz, M. L., & Trigos, Á. (2012). *Caracterización morfológica y molecular de una cepa silvestre mexicana perteneciente al género Ganoderma.* Revista mexicana de micología, 36, 33-40

ANEXOS

N°	Relación de Anexos
1	**Registros fotográficos correspondientes a la actividad número 1.**
f.1	*Ubicación de los equipos en campo a diferentes alturas.*
f.2	*Lote donde se desarrolla el estudio.*
f.3.a	*Composición y funcionamiento de los equipos Burkard vista externa.*
f.3.b	*Composición y funcionamiento de los equipos Burkard. Vista interna.*
f.4	*Acompañamiento en la realización del cambio de cintas en el lote.*
2	**Registros fotográficos correspondientes a la actividad número 2.**
f.5	*Limpieza de materiales.*
f.6.a	*Soporte del tambor.*
f.6.b	*Cinta doble faz.*
f.6.c	*Ubicación de la cinta Melinex*
f.6.d	*Corte del extremo de la cinta.*
f.7.a	*Calentamiento de la vaselina.*
f.7.b	*Limpieza del exceso de vaselina.*
f.7.c	*Aplicación de la vaselina.*
f.7.d	*Tambor guardado en el contenedor para su traslado a campo.*
f.8	*Limpieza del equipo en campo.*
f.9.q	*Activación del sistema cronométrico.*
f.9.b	*Alineación del tambor con la flecha del cabezal.*
f.9.c	*Cierre del cabezal.*
f.10	*Calibración a 10lt/min.*
f.11	*Marcaje del inicio del monitoreo*
f.12	*Desmontaje de las cintas traídas de campo.*
f.13.a	*Regla de metacrilato para el corte de cintas.*
f.13.b	*Corte de la cinta por día.*
f.14.a	*Rotulación de las placas para el conteo de esporas.*
f.14.b	*Aplicación de Gelvatol al 10% en la placa.*
f.14.c	*Depósito de la cinta en la placa.*
f.15	*Almacenamiento de placas en las cajas de Petri.*
3	**Registros fotográficos correspondientes a la actividad número 3.**
f.16.a	*Características morfológicas de las basiodiosporas (100X)*
f.16.b	*Microscopio en 40x*
f.16.b	*Conteo de esporas a 40x*
f.16.b	*Basiodiospora G. zonatum a 40x*
f.17	*Formato para el registro de conteo de esporas.*

1. Registros fotográficos correspondientes a la actividad número 1.

Figura1. Ubicación de los equipos en campo a diferentes alturas.

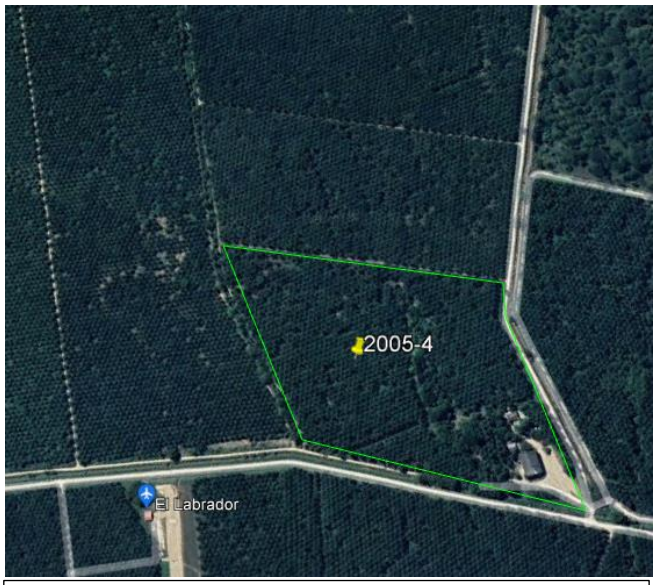


Figura 2. Lote donde se desarrolla el estudio.

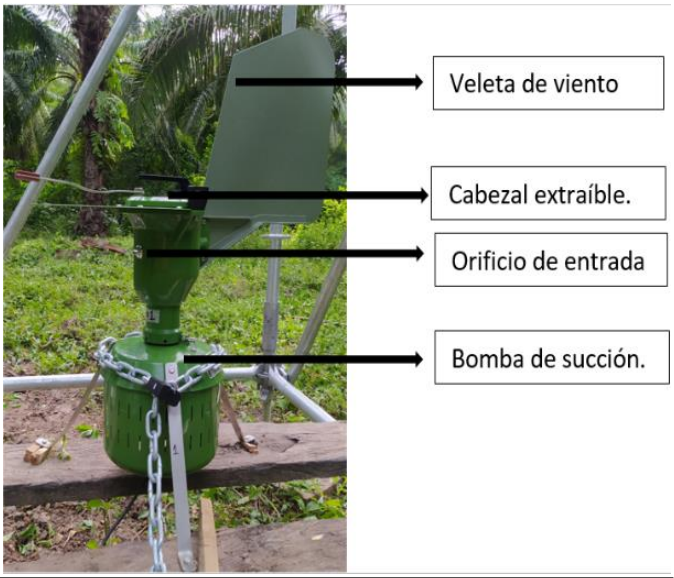


Figura 3a: Composición y funcionamiento de los equipos Burkard. Vista externa.

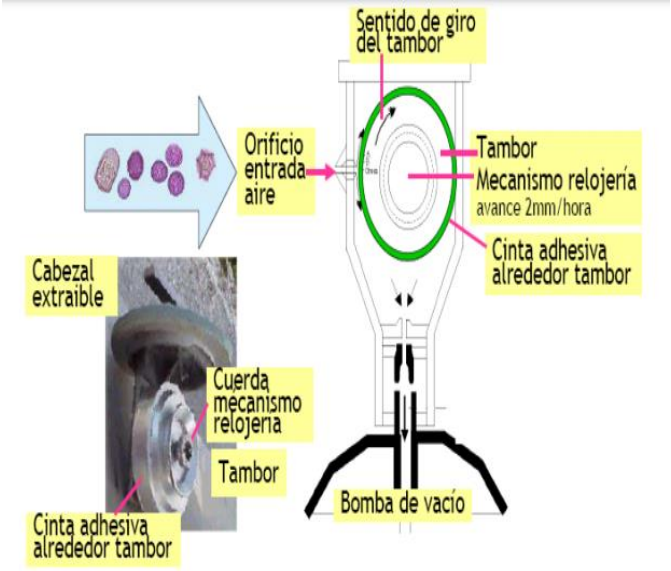


Figura 3b: Composición y funcionamiento de los equipos Burkard. Vista interna. Fuente: *(Villa, 2009).*

Figura 4: Acompañamiento en la realización del cambio de cintas en el lote.

2. Registros fotográficos correspondientes a la actividad número 2:

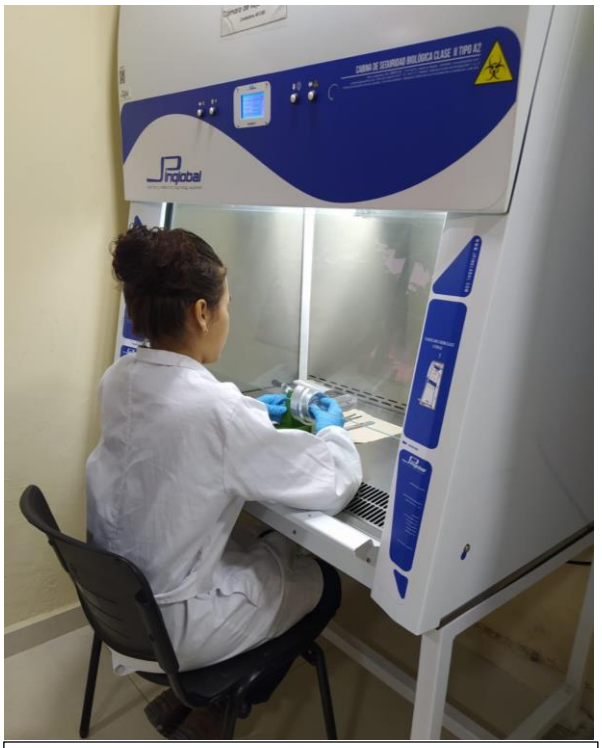


Figura 5: Limpieza de materiales.

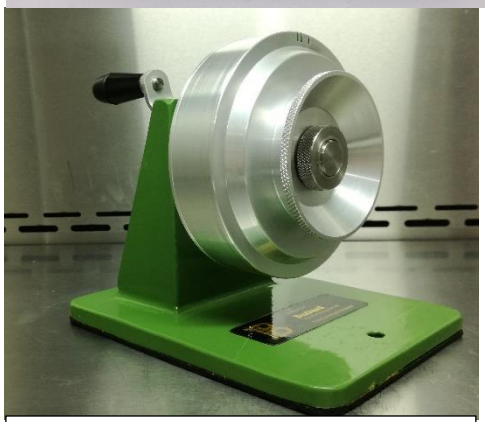


Figura 6a: Soporte del tambor.

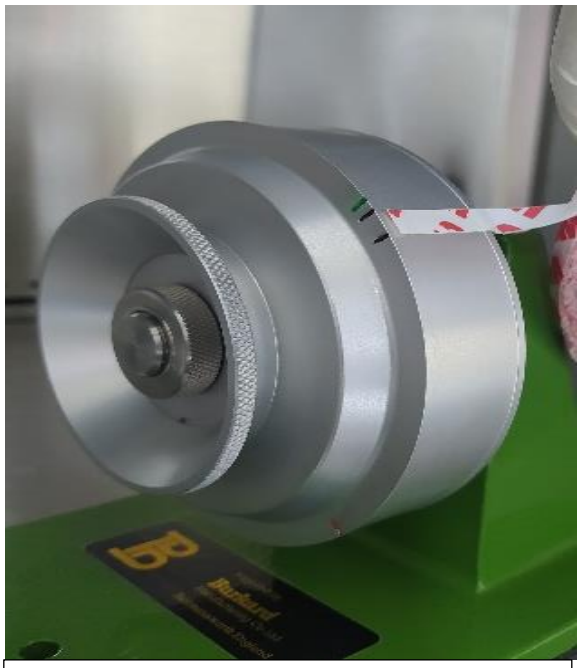


Figura 6b: Cinta doble faz.

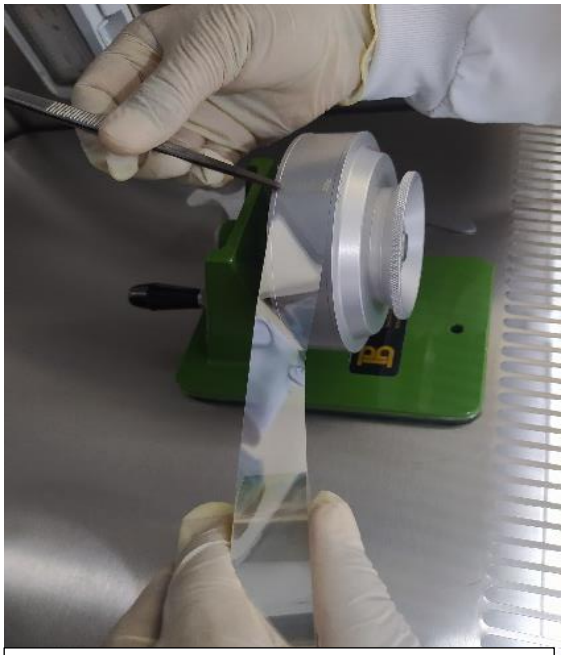


Figura 6c: Ubicación de la cinta Melinex.

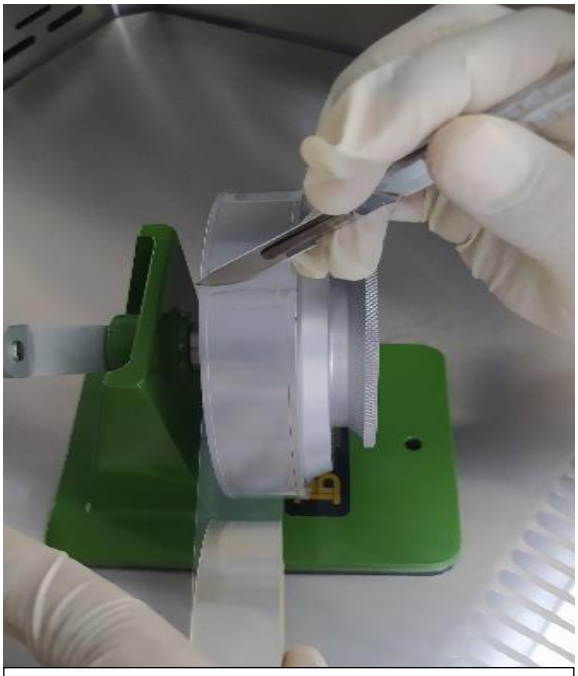


Figura 6d: Corte del extremo de la cinta.

Figura 7a: Calentamiento de la vaselina.

Figura 7b: Exceso de vaselina.

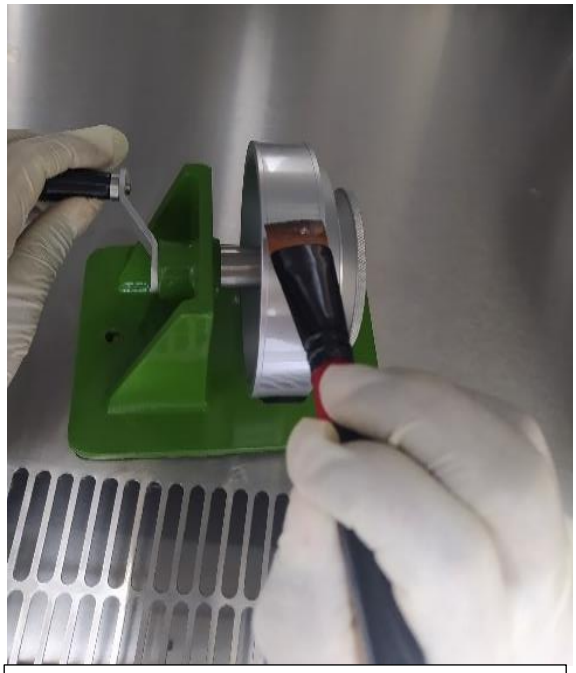


Figura 7c: Aplicación de vaselina.

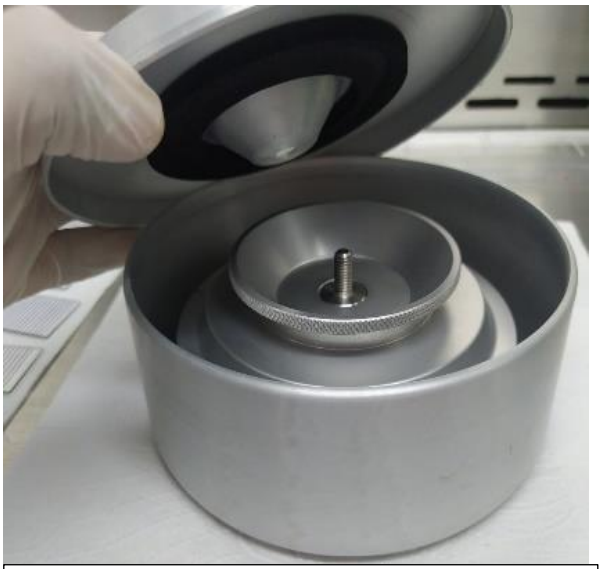


Figura 7d: Tambor guardado en el contenedor.

Figura 8: Limpieza del equipo.

Figura 9a: Activación del reloj.

Figura 9b: Alineación con la flecha

Figura 9c: Cierre del cabezal.

Figura 10: Calibración a 10lt/min.

Figura 11: Marcaje del inicio del monitoreo.

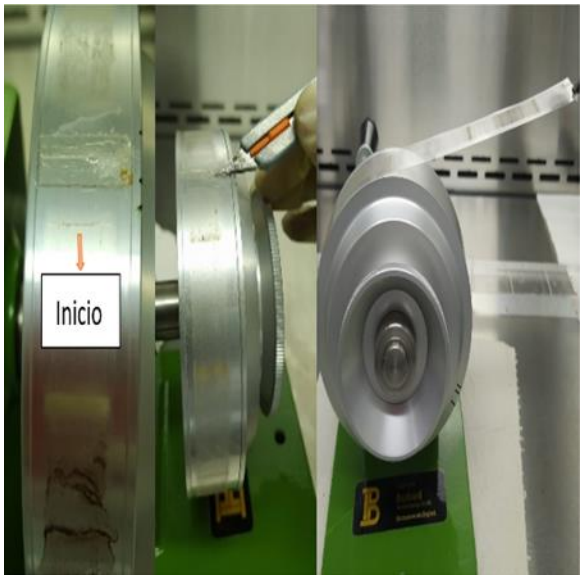


Figura 12: Desmontaje de la cinta.

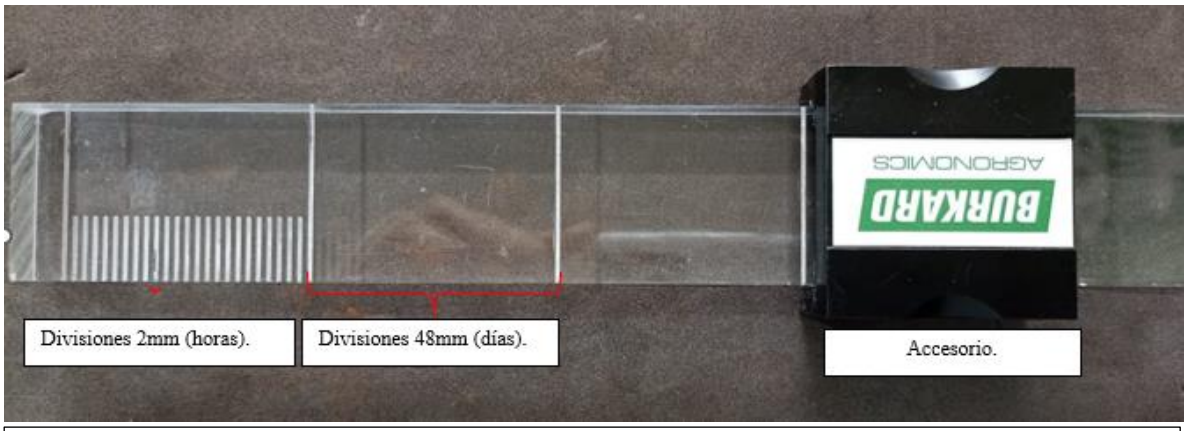


Figura 13a: Regla de metacrilato para el corte de cintas.

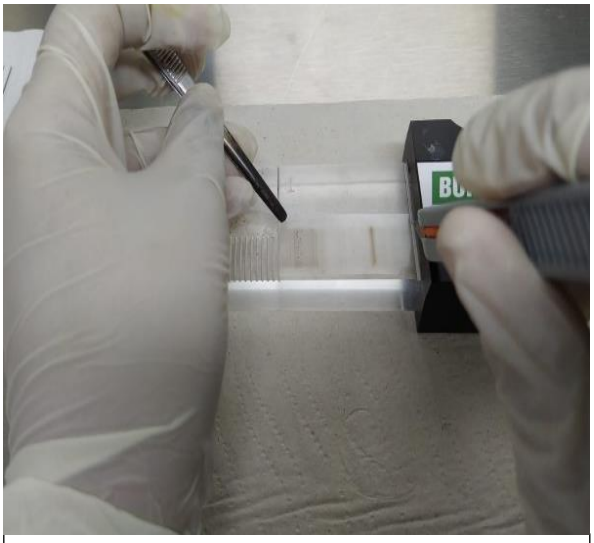


Figura 13b: Corte de la cinta por día.

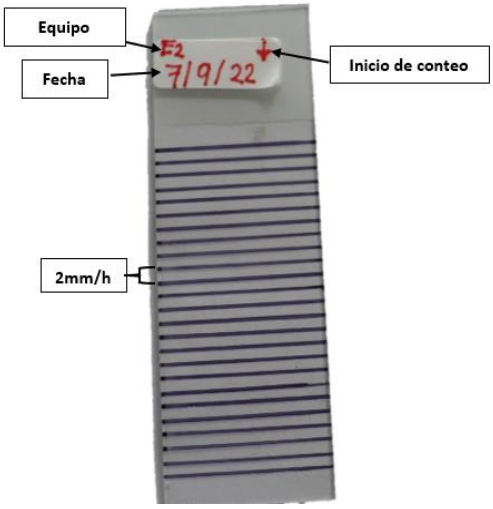


Figura 14a: Placas marcadas.

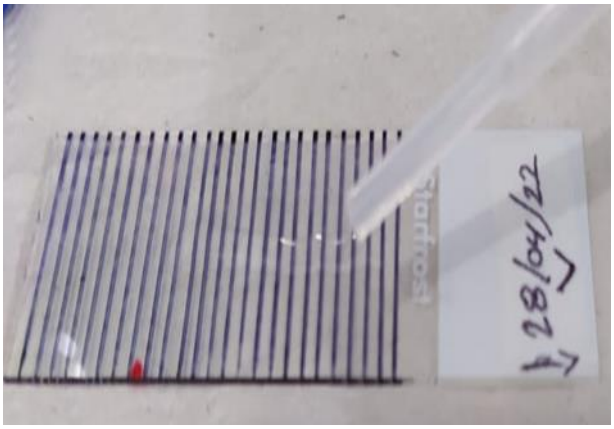


Figura 14b: Aplicación de Gelvatol.

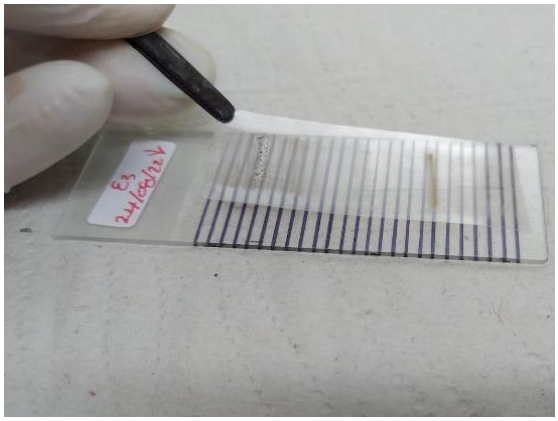


Figura 14c: depósito de la cinta.

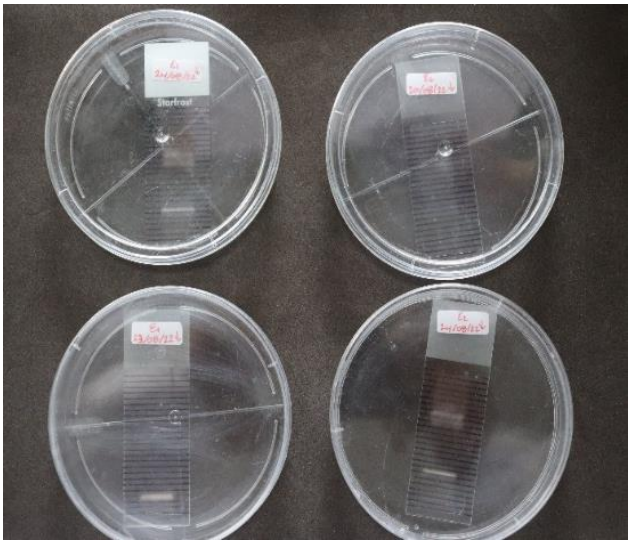


Figura 15: Almacenamiento de placas.

3. Registros fotográficos correspondientes a la actividad número 3:

Figura 16a. Morfología de las basiodiosporas (100X).

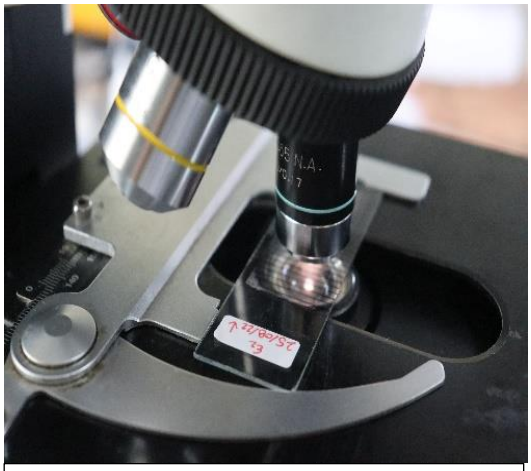


Figura 16b: Microscopio en 40x

Figura 16b: Conteo de esporas a 40x

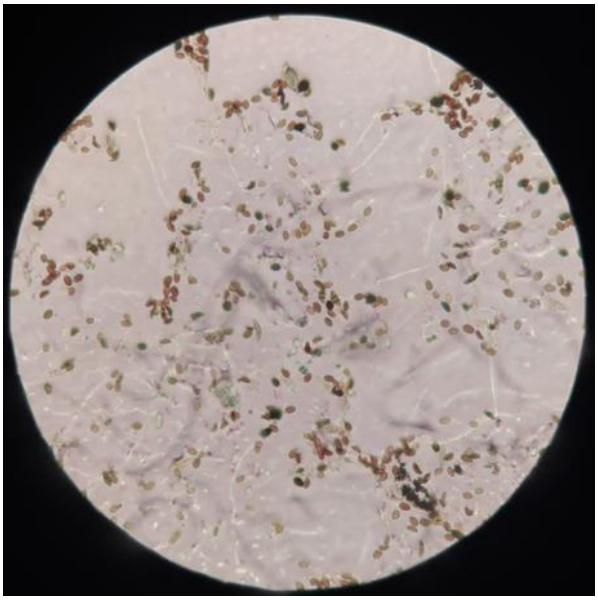


Figura 16b: Basiodiospora *G. zonatum en* 40x

Actividad 3: Evaluar métodos de detección temprana y estrategias de manejo de las enfermedades más limitantes del cultivo de la palma de aceite asociadas con las variaciones del clima - **Subactividad 3.4:** Cuantificación de esporas como método de monitoreo de las enfermedades Pudrición basal del estípite y Pudrición del cogollo.

Formato para el monitoreo de esporas de *Ganoderma sp.*

Fecha de montaje de la cinta: _____ Semana equivalente: _____

	Equipo 1							Equipo 2							Equipo 3							Equipo 4						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
0:00																												
1:00																												
2:00																												
3:00																												
4:00																												
5:00																												
6:00																												
7:00																												
8:00																												
9:00																												
10:00																												
11:00																												
12:00																												
13:00																												
14:00																												
15:00																												
16:00																												
17:00																												
18:00																												
19:00																												
20:00																												
21:00																												
22:00																												
23:00																												

Observaciones: _____

Figura 17: Formato para el registro del conteo de esporas.