

**Evaluación y seguimiento de la respuesta de palma africana a la inoculación con el agente
causante de pudrición del cogollo en el municipio de Tumaco**

Maira Alejandra Meza Viera

*“Plan de trabajo presentado como requisito parcial para optar el título de Ingeniero
Agroforestal”*

Facultad de Ciencias Agrícolas

Programa de Ingeniería Agroforestal

San Andrés de Tumaco

2017

**Evaluación y seguimiento de la respuesta de palma africana a la inoculación con el agente
causante de pudrición del cogollo en el municipio de Tumaco**

Maira Alejandra Meza Viera

*“Plan de trabajo presentado como requisito parcial para optar el título de Ingeniero
Agroforestal”*

Asesores empresa:

Iván Mauricio Ayala *Ph.D.*

Asesor de Universidad:

Hugo Ferney Leonel *Ph.D*

Director del Programa de Recursos Naturales y Sistemas Agroforestales

Facultad de Ciencias Agrícolas

Programa de Ingeniería Agroforestal

San Andrés de Tumaco

2017

Abstract

La pudrición de cogollo es una enfermedad compleja de origen biótico, cuyo agente causal es *Phytophthora palmivora*, que ataca el punto único de crecimiento de la palma. En el año 2009 el municipio de Tumaco presentó pérdidas de al menos 36.934 hectáreas de palma de aceite, por lo que en la zona se caracteriza por ser letal y responsable de grandes pérdidas socio-económicas. La estrecha base genética del cultivo de palma de aceite africana favoreció la propagación de la enfermedad, en donde la evaluación de los recursos genéticos de un cultivo y con el ciclo de vida como el de la palma de aceite (de 30-50 años), resulta muy lenta y costosa. A su vez la Corporación Centro de investigación en palma de aceite CENIPALMA, ha desarrollado metodologías con el fin de mantener activo al agente causal de la PC que es *P. palmivora*. Por lo que actualmente se está buscando la fuente de resistencia a la PC en las colecciones biológicas de CENIPALMA establecidas en la zona central (Barrancabermeja) desde el año 2003 y ahora en la zona sur occidental de Tumaco. Utilizando el método de inoculación a través de folíolos colonizados por *P. palmivora*, permitió que las estructuras como micelio, esporangios y zoosporas del patógeno estén presentes en el tejido, haciendo que al entrar en contacto con las palmas inoculadas, actúen como unidades infectivas, con el propósito de generar lesiones de modo que por medio de variables específicas se encuentren un índice de incidencia donde se muestra la presencia o no de lesiones, evidenciadas en la escala de severidad. Después de realizar filtros de selección por medio de Excel, de los 262 cruzamientos de Angola x yangambi, 26 reportaron tolerancia, 5 de estos tienden a ser inmunes luego de repetidas inoculaciones con la misma cepa. 13 presentaron susceptibilidad a *P. palmivora*.

Palabras claves: Inoculación de folíolos, *Phytophthora palmivora*, incidencia, severidad, Resistencia, PC, agente causal.

Tabla de Contenidos

<i>Figura 3: Crecimiento de P. palmivora sobre medio agar zanahoria.</i>	31	7
Introducción		8
Justificación		10
Objetivos		11
Objetivo General		11
Objetivos específicos		11
Marco Teórico		12
Cultivo Palma de Aceite		12
Morfología y Botánica		13
Pudrición del Cogollo (PC)		14
Descripción de los síntomas		15
Evaluación de la PC		16
Incidencia de la PC		17
Incidencia de la enfermedad en el Municipio de Tumaco		17
Severidad de PC		18
El agente Causal de la PC		18
Metodología		20
Incidencia		20
Severidad		20
Análisis de datos		22
Localización		23
Material vegetal		24
Componente de Laboratorio		24
Frutos		24
El patógeno		24
Activación En Manzana		24
Desinfección		24
Infección		25
Cámara Húmeda		26
Multiplicación del Inoculo		26
Medio Agar Zanahoria		26
Crecimiento de discos en medio líquido		27
Preparación del Inóculo		27
Liberación De Zoosporas		27
Inoculación de Folíolos		28
Componente de Campo		29
Inoculación de Palmas en Umbráculo		29
Evaluación de la Inoculación		29
Resultados y discusión		30
Activación en manzana		30
Multiplicación del Inoculo		31

Inoculación de foliolos.....	32
Inoculación de palmas en umbráculo.....	34
Incidencia por CC (Código Cruzamiento)	35
Incidencia por Censo.....	36
Severidad.....	38
Cráter.....	41
Conclusiones	43
Aportes	44
Recomendaciones.....	45
Lista de referencias	46
Apéndice: Escala de grados de severidad de la PC.....	50
ANEXO.....	51

Lista de tablas

Tabla 1 Escala de severidad de PC	21
Tabla 2 Códigos de los cruzamientos con incidencias de 0% de PC.....	35
Tabla 3 Frecuencia de los grados de severidad para cada censo	39
Tabla 4 Resultados de los filtros aplicados a los datos de severidad	40
Tabla 5 Resultados de filtros aplicados para hallar códigos con cráter	41
Tabla 6 Formato Censo PC pre y post inoculación.....	50

Lista de figuras

<i>Figura 1:</i> Ubicación geográfica del umbráculo. Tumaco Nariño.	23
<i>Figura 2 :</i> Proceso de reactivación de <i>P.palmivora</i> en manzana.	31
<i>Figura 3:</i> Crecimiento de <i>P. palmivora</i> sobre medio agar zanahoria.	32
<i>Figura 4:</i> Inoculación de los foliolos con PC.	32
<i>Figura 5:</i> Germinación de zoosporas.	33
<i>Figura 6:</i> Estructuras de <i>P.palmivora</i>	34
<i>Figura 7:</i> Inoculación en campo.	35
<i>Figura 8:</i> Gráfica de incidencia de las 2616 palmas evaluadas para cada Censo.	37
<i>Figura 9:</i> Grados de severidad, lesiones.	38
<i>Figura 10:</i> Cráter.	42

Introducción

La palma africana de aceite *Elaeis guineensis* (Jacq.) presenta relativamente pocas enfermedades de importancia en cada uno de los diferentes ambientes en que ha sido sembrada comercialmente, aunque las pudriciones y secamientos de los tejidos que forman el cogollo de las palmas, constituyen el problema fitosanitario más importante de la palma de aceite en América tropical (Martínez *et al.*, 2009).

Según la Federación Nacional de cultivadores de Palma de aceite (FEDEPALMA), desde 1977, se reportaron los primeros casos de Pudrición de Cogollo (PC), los cuales no representaban mayor riesgo por sus bajos niveles que se mantuvieron hasta 2004, cuando la enfermedad inició un comportamiento epidémico que se convirtió en una emergencia sanitaria y económica para la agroindustria de la palma de aceite, que a 2008 reportó pérdidas superiores al 90% de los cultivos y de las 36.934 hectáreas sembradas en la zona de Tumaco (Burgos, 2011).

La Pudrición de cogollo, empieza cuando *Phytophthora palmivora* causa lesiones iniciales en tejido joven de la palma de aceite (Martínez *et al.*, 2014), sobre estas lesiones crecen a su vez otros microorganismos como hongos y bacterias que, de manera agresiva y progresiva, descomponen tejidos hasta llegar al cogollo de la palma.

Aunque esta enfermedad se convirtió en uno de los mayores problemas de las plantaciones de américa, aún no existe un único método de manejo agronómico absoluto para controlar la enfermedad. Sin embargo, se ha observado que dentro de los orígenes *Elaeis guineensis* Jacq. y *Elaeis oleífera* H.B.K (palma de aceite de origen americano), así como en el híbrido inter-específico obtenido por el cruce de las especies *Elaeis oleífera* x *Elaeis guineensis* (híbrido OxG), existen fuentes de resistencia; ya que la tasa de mortalidad de la enfermedad en

estos materiales de palma de aceite puede ser más lenta o incluso presentar recuperaciones parciales o totales (Amblard *et al.*, 2004)

Con base en estas observaciones, en zonas como el sur- Occidente colombiano (Tumaco) y la zona central se ha re-sembrado con palma de aceite del híbrido interespecífico O×G. Aunque el híbrido ha mantenido viable el cultivo en la zona de Tumaco, los altos rendimientos presentados anteriormente por la palma de aceite africana y su cultivo, hacen que se mantenga latente el interés de volver a cultivarla en las zonas afectadas por la PC. Para conseguirlo, es necesario caracterizar y evaluar recursos fitogenéticos obtenidos y establecidos del Campo experimental Palmar de la Vizcaína de Cenipalma. (Rey *et al.*, 2004).

Dentro de las colecciones biológicas de trabajo, se incluyen poblaciones silvestres con potencial para ampliar la base genética de los materiales comerciales sembrados actualmente y desde los cuales existe la posibilidad de encontrar fuentes de resistencia a factores bióticos y abióticos que permitan generar nuevas variedades con ventajas competitivas para el sector palmero (Rey *et al.*, 2004).

Justificación

Entre las investigaciones que se han realizado para el control de esta enfermedad, se destaca observaciones dentro de los orígenes *E.guineensis* que presentan una evolución de la tasa de mortalidad más o menos rápida e incluso una posible resistencia a la PC por parte de *E. oleífera* y de su híbrido con *E. guineensis*. En efecto, la especie *E. oleífera*, interviene de modo esencial en la lucha contra la PC en Latinoamérica, aunque hay otras características de *E. oleífera*, que también son importantes para el mejoramiento de la palma de aceite (Amblard *et al.*, 2004).

Los estudios han sido enfocados a explorar las fuentes de menor sensibilidad en *E. guineensis*, encontrar los mejores híbridos F1 para la producción de aceite y transferir la resistencia a la PC de *E. oleífera* a *E. guineensis* vía retro-cruce.

En esta investigación, específicamente se llevó a cabo en el ensayo de la colección biológica de *Elaeis guineensis* de origen Angola, la identificación fuentes de resistencia a la PC y la obtención de materiales que mejoren las necesidades del sector palmicultor.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la respuesta de palma africana de origen Angola x *tester*, a la inoculación con el agente causante de Pudrición del Cogollo en el municipio de Tumaco, bajo condiciones semi-controladas en etapa de vivero.

Objetivos específicos

- Validar la inoculación con *P. palmivora* como método de selección temprana de un cultivar de palma de aceite
- Medir la respuesta y comportamiento de las palmas frente a la inoculación con *P. palmivora* aislamiento PCTU439.
- Seleccionar cultivares promisorios de palma africana de origen Angola, por su respuesta a la inoculación con *P. palmivora*.

Marco Teórico

Cultivo Palma de Aceite

La palma de aceite es el cultivo oleaginoso que produce mayor cantidad de aceite por unidad de superficie. Con un contenido del 50% en el fruto, puede rendir de 3.000 a 5.000 Kg de aceite de pulpa por hectárea, más 600 a 1.000 Kg de aceite de palmiste. (García, Núñez y Ramírez, 2013).

La palma de aceite africana *Elaeis guineensis* Jacq y americana *Elaeis oleifera* (kunth) Cortes. Son las más cultivadas, siendo *E. guineensis* la más utilizada comercialmente en el mundo y por tanto la más estudiada (Corley y Tinker, 2003).

La producción mundial de aceite de palma se calcula en más de 3.000 millones de toneladas métricas y los principales países productores son Malasia, Nigeria, Indonesia, Zaire y Costa de Marfil, y otros países africanos y sudamericanos (Cristancho, 2012). Además de su alto rendimiento por unidad de superficie, la palma de aceite es importante por la gran variedad de productos que genera, los cuales se utilizan en la alimentación y la industria. Tanto el aceite de pulpa como el de almendra se emplean para producir margarina, manteca, aceite de mesa, de cocina, y jabones. El aceite de pulpa se usa en la fabricación de acero inoxidable, concentrados minerales, aditivos para lubricantes, crema para zapatos, tinta de imprenta, velas. Se usa también en la industria textil y de cuero, en la laminación de acero y aluminio, en la trefilación de metales y en la producción de ácidos grasos y vitamina A (Benítez, 2017).

Morfología y Botánica

La palma de aceite es una monocotiledónea perenne perteneciente al género *Elaeis*. Este género se compone por tres especies: *Elaeis guineensis* Jacq. (Palma africana), *Elaeis oleífera* (kunth) Cortes (Palma Americana) y *Elaeis odora* Wess (Trénel et. al, 2006).

La arquitectura de las raíces de la palma es de dos tipos, el orden 1 con crecimiento vertical descendente y con crecimiento horizontal con un diámetro en promedio de 5-7mm y la longitud varía hasta metros, la vertical tiene dos raíces alrededor de su circunferencia de las cuales crecen horizontalmente, la primera puede llevar una dirección ascendente o descendente. Estas dos direcciones de crecimiento se les conoce como raíces secundarias específicas.

Las raíces de segundo orden crecen horizontalmente y son cortas, menos de 50 cm tienen crecimiento limitado donde llegan a diámetros hasta de 1.5mm con poca ramificación y simetría radial. Las raíces secundarias que crecen verticalmente pueden llegar a un diámetro de 2mm, tienen crecimiento indefinido y son ortovitrópicos (positivos o negativos).

Las raíces de tercer orden muestran poca ramificación llegan a un diámetro de 1mm. Son muy cortos (10-20cm) aunque no hay una dirección dominante del crecimiento. (Jourdan *et. al*, 2000).

El tronco o también llamado estípite, es la estructura que comunica las raíces con las hojas, tiene tres funciones: sirve como soporte de las hojas, contiene el sistema vascular donde se transporta el agua y los nutrientes minerales en toda la planta y funciona como órgano de almacenamiento, los estípites del híbrido inter-específico OXG, tienen una tasa de elongación de 25 cm y *E.guineensis* de 50 cm por año (Arias *et al.*, 2009).

Las hojas en condiciones normales poseen entre 32 y 48 hojas funcionales, con emergencia promedio de 2 hojas por mes. Está compuesta por peciolo, raquis y los folíolos (150-

250 por hoja), el área foliar resultante de la suma de todos los folíolos varía, entre 250 y 350 metros cuadrados, la distribución espacial de las hojas dentro del estípote es determinado por la filotaxia donde cada hoja se desplaza centrífugamente a medida que aparecen las hojas más jóvenes, dando resultado una distribución simétrica de las hojas. En palmas adultas la distribución las hojas pueden observarse en conjuntos de espirales: ocho que van en un sentido y 13 que van en el otro. Dependiendo del sentido en el que se ejerce el desplazamiento de las mismas se le llama a la palma zurda o diestra. (Arias *et al.*, 2009).

Por ser una planta monoica, produce en forma separada inflorescencias masculinas y femeninas en el mismo árbol. El primordio o yema de las inflorescencias se produce en la axila de cada hoja y la principal función de las inflorescencias masculinas es proveer de polen necesario para fecundar las femeninas. Las flores masculinas están compuestas de 100 a 160 espigas en forma de dedos, que en conjunto proveen entre 30 y 60g de polen, las flores femeninas están insertadas en las espiguillas dispuestas en espiral alrededor del raquis; pueden estar distribuidas hasta en 110 espigas y sumar hasta 4000 aptas para ser polinizadas. (Hormaza Martínez, Forero Hernández, Ruiz Romero & Romero Angulo, 2010).

El fruto de la palma de aceite es una drupa sésil o una semilla encerrada en una pulpa carnosa de forma variada desde casi esférica a ovoide o alargada, fluctúan entre 2-7 cm de largo y consiste en un exocarpio delgado, una pulpa aceitosa o mesocarpio, un endocarpio duro o cuesco y un endospermo o almendra (Fairhurst y Hardter, 2003).

Pudrición del Cogollo (PC)

Por más de cuarenta años el agente causal de la enfermedad no fue correctamente identificado, como resultado de los trabajos realizados por el Centro de Investigación de Palma de Aceite (CENIPALMA 2010) de Colombia, se logró identificar a *Phytophthora palmivora*

Butl, como el agente causante de las primeras lesiones de la PC, luego de lo cual se presentan patógenos oportunistas como: hongos (*Fusarium spp.*, *Colletotrichum sp.*, *Thielaviopsis sp.*, y *Rhizoctonia sp.*, entre otros), bacterias (*Pseudomonas sp.* y *Erwinia sp.*) e insectos (*Rhynchophorus palmarum*) que promueven el proceso de pudrición.

Laing (2010), señala que las incidencias de la PC ocurren en palmas aisladas o en grupos casi simultáneamente. Grupos de palmas contiguas en una zona específica pueden verse demostrando los primeros síntomas casi simultáneamente en micro sitios que son denominados frecuentemente como “focos de infección”.

Van de Lande y Zadoks (1999) en investigaciones realizadas en Surinam (Victoria y Phedra) describen a la Pudrición del cogollo como una enfermedad fatal de etiología desconocida, también señalan que la primera planta afectada fue notificada en 1981, bajo análisis de los gradientes de la enfermedad en el tiempo confirmaron que había una dirección preferencial de propagación (Oeste), cuya dispersión es influenciada por el viento y que el haber mantenido palmas enfermas para cosechar los últimos racimos, llevó al incremento en un 40% de incidencia de la enfermedad, ya en ese momento el rendimiento había bajado a 50% y los beneficios marginales de racimos adicionales resultó en pérdidas.

Descripción de los síntomas

La infección aparece en los tejidos blandos y en la zona de elongación y maduración en el tercio superior de la yema, que se extiende a las flechas adyacentes. Moreno-Chacón *et al.*, (2013) citado por Espinosa (2017) mencionan que estos tejidos son los ideales para que *P. palmivora* colonice el tejido de la hoja, esporule y ocasione infecciones y que finalmente también colonice la yema.

Externamente los síntomas son visibles en los costados de las flechas, se observan pequeñas lesiones que desintegran el tejido entre las nervaduras. Las condiciones favorables generan un incremento en el número y tamaño de las lesiones y en casos severos afectan toda la flecha. En las hojas jóvenes se torna un amarillamiento, acompañado de pudrición y secamiento de la flecha, si llega a alcanzar la zona meristemática podría provocar la muerte de la palma (Espinosa, 2017).

Para Nieto (1993), los síntomas de la pudrición de cogollo varían dependiendo de las condiciones climáticas y del suelo. Indica que los síntomas externos más comunes son: pudrición de flechas, clorosis, moteado, amarillamiento, hoja quebrada y hoja pequeña o corta. También afirma que no existe un síntoma inicial, ni una secuencia u ordenamiento en la aparición de estos; ya que cada síntoma puede presentarse sólo o combinado con los demás y no todos inducen la pudrición del cogollo; por ejemplo, algunos folíolos se necrosan, cambian de color y mantienen una consistencia dura hasta secarse totalmente; aunque otros toman un aspecto acuoso de color gris o crema y se deshacen a la menor presión que se les haga con los dedos.

Evaluación de la PC

La evaluación de la PC se puede realizar por medio de la patometría o cuantificación de la enfermedad que envuelve dos etapas; la primera es el muestreo de plantas disponibles para la infección o sus partes representativas que también es conocido como incidencia (porcentaje de plantas, frutos etc., infectados), y la segunda es la evaluación de la severidad de la enfermedad (porcentaje de tejido enfermo) empleando escalas diagramáticas (Hernández T. & Montoya H., 1987). Para la evaluación de la PC en Colombia, investigadores de CENIPALMA han diseñado una escala de severidad de PC.

Incidencia de la PC

La presencia de la enfermedad se indica a través de su incidencia. Donde la incidencia es la relación entre el número de palmas enfermas sobre el total de las palmas. Rivas et al. (2017), Sugiere la formula a continuación descrita:

$$I(\%) = \frac{n}{N} \times 100$$

Donde,

- I= Incidencia
- n= Cantidad de plantas afectadas
- N= Total de plantas

Debido a que el número de palmas tanto en vivero como en plantaciones es alto, sugiere Hernández T. y Montoya H., (1987), que el método de muestreo sea aleatorio simple en forma de zigzag, con un mínimo de 10 palmas, sin embargo, en este trabajo se realizó al total de las palmas.

Incidencia de la enfermedad en el Municipio de Tumaco

La enfermedad de la Pudrición de cogollo (PC) se propago rápidamente en las 36.934 hectáreas de palma de aceite sembradas en el municipio de Tumaco. En el censo de incidencia de PC realizado entre enero de 2007 y febrero de 2008 por CENIPALMA Y CORPOICA resultados mostraron que el número de palmas enfermas detectadas se multiplicó por siete al pasar de 441 mil a 3 millones. La proporción de palmas enfermas aumentó en dicho período de 8,3% a 58% del total de palmas sembradas.

La zona de mayor afectación se registró al sur del río Mira, con 68,1% de palmas enfermas, seguida por la Zona Centro, ubicada entre la margen derecha (norte) de este río y la carretera Tumaco - Pasto, con el 55,4%. En la Zona Caunapí, al costado nororiental de esta

carretera se registró 43,5% de palmas enfermas en febrero de 2008 (Corredor, Martínez & Silva, 2008).

Severidad de PC

Basados en los síntomas observados, CENIPALMA ha diseñado una escala de severidad para evaluar la magnitud del avance de la PC en palmas jóvenes, es decir vivero, pero también en sitio definitivo. Dicha escala se estableció entre 0 y 5 basada en el porcentaje de área afectada como se muestra en el apéndice (Martínez & Torres, 2007).

El agente Causal de la PC

Para Martínez *et al.*, (2014), la búsqueda del agente causal de la pudrición del cogollo lleva más de 80 años en las cuales son numerosas las causas bióticas y abióticas. Investigaciones iniciales realizadas por CENIPALMA sugerían que el agente causante de la PC era *Thielaviopsis paradoxa*, en estudios posteriores sugerían como posibles agentes a *Fusarium*, *Phytophthora*, *Phytium* y bacterias del genero *Erwinia* (Martínez *et al.*, 2010). En los viveros está presente, y esto ayuda a examinar los primeros estados de desarrollo de la enfermedad. Bajo el microscopio se logran observar hifas a medida que avanzan las lesiones necróticas húmedas en el corazón de la palma, con esporangios en la región húmeda y clamidosporas en las áreas necróticas. Con la técnica descrita por Drenth y Sendall (2001), Cenipalma en el año 2008 pudo identificar a *P. palmivora* como el agente causal de la pudrición del cogollo.

Este patógeno pertenece al reino Straminipila (Cromista) y posiblemente tiene su origen en el trópico americano (Martínez *et al.*, 2009). Según Franqueville (2001), la pudrición del cogollo puede tener dos formas; la letal presente en la Amazonia ecuatoriana y brasileña y en ciertas zonas de Colombia y Surinam, y la no letal con alta tasa de recuperación que se presenta en los llanos colombianos.

La PC en Colombia se registra en todas las Zonas, sin embargo, su incidencia y severidad varían y están sujetos al manejo agronómico en cada una de las plantaciones y a las condiciones medioambientales prevalentes en cada zona (Martínez *et al.*, 2009).

En la zona Oriental de Colombia, la PC se presentó a finales de 1980 de un modo alarmante entre los productores, pero luego se recuperaron espontáneamente algunas palmas, esto incentivo a la investigación colombiana relacionada con los desbalances nutricionales, problemas de drenaje interno y externos. Como resultado se generaron programas de buen manejo agronómico, adecuados a la fertilización, balance de nutrientes entre otros (Martínez *et al.*, 2007).

Metodología

Este trabajo está vinculado a la pasantía profesional, donde se muestran resultados parciales, el enfoque de la investigación es descriptivo y los datos fueron analizados por medio del software Excel. Se realizaron cinco censos cada 2 meses. En cada censo se debían evaluar 2620 palmas, pero se evaluaron 2616 debido a que el cruzamiento con código 229 se situaron solo 6 palmas en los que se registraron datos de incidencia y severidad basados en la escala de severidad de la enfermedad de la pudrición del cogollo en palma de aceite de Martínez y Torres (2008). Los 262 cruzamientos evaluados tienen asignado un código numérico alternado que está en un rango que empieza con el código 3 y finaliza en el código 502. Esta codificación a la que llamaremos de la forma abreviada CC (Código de Cruzamiento) en este informe, es necesario para llevar un orden en la forma como se presentan los resultados y poder mantener una trazabilidad en el experimento para seleccionar los cruzamientos y parentales que otorgan mayor resistencia a la PC.

Incidencia

La información de los 262 códigos se tabuló en un orden de menor a mayor, donde se muestra el total de los censos realizados y en el mayor número de censos en que se haya reportado incidencia de 0 % en adelante para cada CC. Además, se representará gráficamente la Incidencia de las 2616 palmas en los censos realizados.

Severidad

Martínez y Torres (2007), diseñaron la escala diagramática para realizar el censo de PC (Tabla 1). Esta escala permite al evaluador dar una calificación al daño de severidad en porcentaje de daño del área afectada, en este caso la hoja flecha.

Tabla 1. Escala de severidad de PC, desarrollada por CENIPALMA para clasificar el grado de daño causado por el patógeno en la palma.

Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
sin lesión	0,1 - 20%	20,1 - 40%	40,1 - 60%	60,1 - 80%	80,1 - 100%

Nota: Tomada de Martínez y Torres (2007)

El promedio ponderado es importante cuando se tiene una serie de datos con mayor importancia. Para poder tabular la información de este ensayo, se realizó una modificación con los rangos de cada grado para poder sacar los promedios ponderados de severidad. Si el grado 1 está en entre 0.1– 20 %, se usó el valor medio, es decir 10%, para el grado 2: 30%, grado 3: 50%, grado 4: 70% y grado 5: 90 %.

$$\text{Promedio ponderado de severidad} = \frac{(g1n1) + (g2n2) + (g3n3) + (g4n4) + (g5n5)}{T}$$

Dónde: g1 = 10%, g2 = 30%... g5 = 90%.

n1, n2... n5 = número de repeticiones evaluadas en cada grado.

T = número total de repeticiones

Se tabularon los datos del promedio ponderado de severidad de los cinco censos realizados y se realizó la sumatoria de los promedios para cada Código de Cruzamiento para filtrar y analizar en conjunto.

Análisis de datos

La manera en que se analizaran los datos requirió establecer filtros de selección para obtener los mejores CC ante la inoculación de *P. palmivora*. Los filtros son:

- Los CC deben tener Incidencia igual o cercana a 0% durante los cinco censos.
- La sumatoria del promedio ponderado de severidad de los CC en los cinco censos debe ser igual o menor a 10.
- Los CC no deben tener reportado ningún cráter en ninguno de los cinco censos.

Localización

Este trabajo se llevó a cabo en la zona Suroccidental palmera de Colombia. Esta zona se encuentra en jurisdicción del municipio de Tumaco, ubicado en la Costa Pacífica del departamento de Nariño en el km 33 vía Tumaco-Pasto, en la vereda de Tangareal del Mira. Cuenta con una precipitación media anual de 2756 mm, una temperatura media anual de 25.6 °C (Es.climate, 2017).

La investigación se realizó en un umbráculo de 40 x 23 metros que se encuentra en la sede de Cenipalma, sede Tumaco. En el interior se controla la humedad relativa y la temperatura a través de nebulizadores que se activan automáticamente cuando la humedad relativa está por debajo del 80% y/o la temperatura está por encima de 36°C.

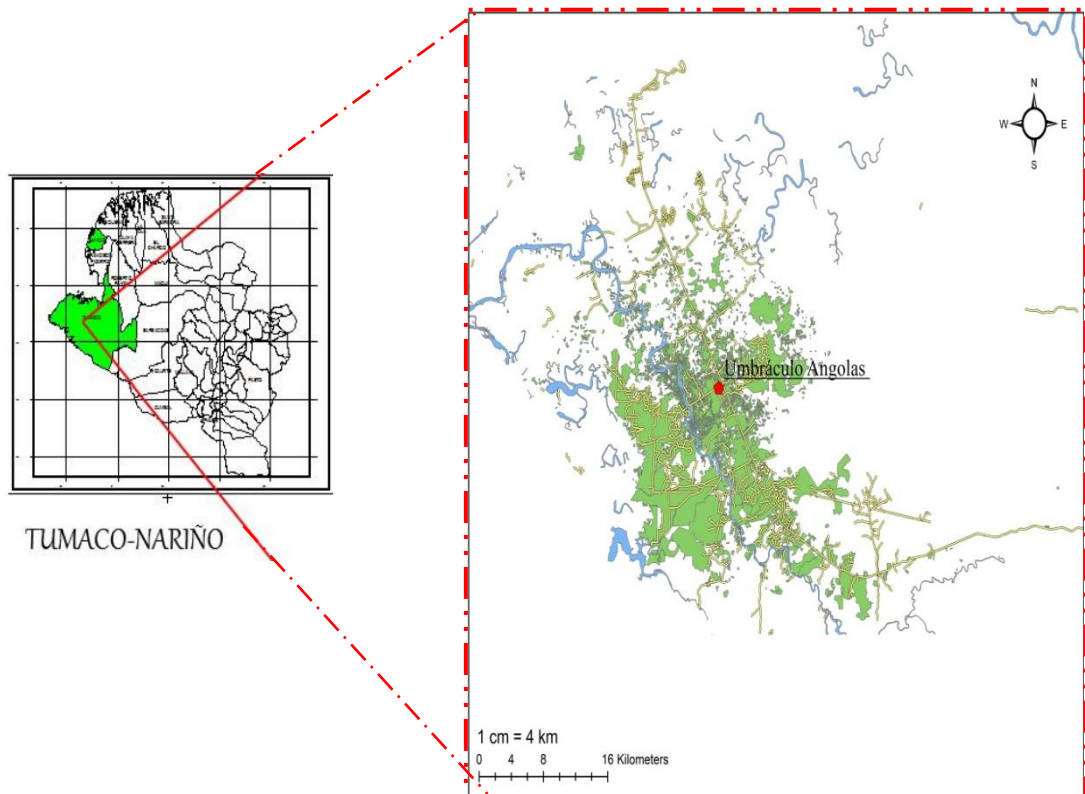


Figura 1. Ubicación geográfica del umbráculo. Tumaco Nariño.

Material vegetal

En esta investigación se evaluó la población total de 262 cruzamientos del cultivar Angola x Yangambi (pisífera), donde contamos con la susceptibilidad del padre (polen) y la respuesta de tolerancia o resistencia de la madre Angola.

Componente de Laboratorio

Frutos. Se seleccionó la manzana verde (*Malus domestica*) de las frutas posibles (entre: el cacao, papaya, pera o manzana) por su facilidad para realizar la reactivación *del P. palmivora*, debido al corto tiempo de esporulación y fácil control en los casos de contaminación.

El patógeno. El patógeno utilizado fue otorgado por Cenipalma sede Tumaco, y corresponde al aislamiento de *Phytophthora palmivora* (E.J. Butler) Cepa PCTU439, dispuesto en un medio de cultivo elaborado por la misma entidad.

Activación En Manzana. En este proceso la manzana se utilizó como método de trapeo para la captura del patógeno, herramienta que permitió mantenerlo, aislarlo y purificarlo de contaminantes que compitieran con el microorganismo.

Desinfección. Inicialmente se agregó TEGO 2% al pedúnculo del fruto, dejándolo durante 30 segundos aproximadamente y lavándolo con agua estéril. Los frutos son llevados a cabina de flujo laminar previamente desinfectada con soluciones de TEGO al 2% y TIMSEN 2% disueltos en etanol al 70 %. Una vez en la cabina se mantuvo tuvo las condiciones adecuadas de asepsia se inició el proceso de desinfección ubicando alrededor de 500 ml de hipoclorito al 3% en un vaso de precipitado de 600 o 1000 ml según el tamaño de la manzana, cubriéndola en su totalidad. Adicionalmente se ubicaron dos vasos de precipitado en los cuales se sirvieron el mismo volumen de agua previamente esterilizada.

Una vez con las tres soluciones preparadas, se procedió a esterilizar las pinzas en el mechero, las cuales fueron previamente pasadas por una solución de etanol al 96%. Posteriormente se tomó la manzana por el pedúnculo y se ubicó dentro del vaso de precipitado con hipoclorito durante cuatro minutos. Se repitió el proceso pasando la manzana por los vasos que contienen agua esterilizada pero esta vez durante tres minutos cada repetición. Por último se extrajo la manzana de la solución y se secó con servilletas previamente esterilizadas especialmente en el punto de unión entre el pedúnculo y el fruto ya que en ese lugar se podría acumular agua y generar contaminación en el fruto.

Infección. Para este proceso se necesitó:

- Pipetas Pasteur
- Cuchillas estériles
- Cámara húmeda
- Tapas de tubos eppendorf estériles
- Asa micológica
- Vaselina

Las pipetas se esterilizaron en el mechero, posteriormente se formaron círculos sobre la superficie del medio de cultivo del Oomiceto. Enseguida se tomó el asa micológica, se esterilizo en el mechero y se procedió a realizar punciones en la manzana en el punto medio, entre la base y el ápice del fruto. Así mismo se utilizó la cuchilla para cortar la porción superficial del medio de cultivo donde se realizaron los agujeros. La porción cortada, es ubicada sobre la superficie de la manzana donde se realizó la herida, se esterilizo y se cubrió con la tapa del tubo eppendorf agregando vaselina sobre el borde, para facilitar su adherencia al fruto y generar una barrera y evitar la proliferación de bacterias.

Cámara Húmeda. Para finalizar, las manzanas infectadas se colocaron dentro de una cámara húmeda compuesta por un vaso precipitado de 600 o 1000 ml (según el tamaño de la manzana) previamente esterilizado, la cual tiene en su base servilletas estériles humedecidas ligeramente y una pieza de caja Petri pequeña que puede ser la tapa o la base, allí se ubicó la manzana para evitar el contacto con las servilletas. El montaje se selló con papel aluminio y cauchos plásticos para garantizar su esterilidad.

Multiplicación del Inoculo. La multiplicación se realiza con el objetivo de garantizar la cantidad mínima de inoculo para iniciar una infección. Existen diferentes tipos de medios para llevar a cabo la multiplicación del inoculo según el microorganismo, para el caso de *P. palmivora*, se describe el procedimiento utilizado:

Medio Agar Zanahoria. Este medio se realizó pesando 120 g de Zanahoria para 1000 ml de medio a preparar. Una vez con la zanahoria pesada se procedió a licuarla en un volumen de agua que no sobrepase el volumen final. Se pasó el licuado por un filtro que puede ser elaborado con servilletas sobre la boca de un vaso de precipitado ajustadas con un caucho. Posteriormente la mezcla se aforó al volumen final necesitado y se agregó agar. Se esterilizó en la autoclave a 121° C durante 20 minutos. Una vez culminado el tiempo, el medio se extrajo y fue tapado rápidamente para evitar alguna contaminación, para esto fue necesario utilizar guantes de carnaza para evitar quemaduras, y servilletas Scott para sujetar y sellar el recipiente.

La manzana se colocó en una servilleta estéril con el objetivo de realizar una serie de cortes en la zona de avance de la lesión. Los cortes fueron realizados cuidadosamente y puestos en el medio agar zanahoria para su propagación.

Crecimiento de discos en medio líquido. Para la preparación de este medio se necesitó exclusivamente de zanahorias frescas. Se pesó 120 g de Zanahoria para 1000 ml de medio a preparar. Una vez con la zanahoria pesada se procedió a licuar en un volumen de agua que no sobrepase el volumen final. Se pasó el licuado por un filtro que puede ser elaborado con servilletas sobre la boca de un vaso de precipitado ajustando con un caucho. Posteriormente la mezcla se aforó al volumen final necesitado y se obtuvo medio pobre.

Finalmente, la solución se colocó en un frasco de tapa rosca o Erlenmeyer y se llevó a la autoclave para su esterilización a 121 ° C con 15 lb de presión.

Por otro lado, se realizaron una serie de cortes en la caja madre con ayuda de una pipeta Pasteur de cristal. Se tomaron discos de crecimiento de *P. palmivora* (20 discos aprox.) y se ubicaron en cajas Petri de vidrio previamente esterilizadas.

Se le agrego jugo de zanahoria 30gr/L (8ml) y se dejó durante 3 días en presencia de luz dentro de la cabina de flujo laminar. En todo caso el jugo de zanahoria que se adiciono no cubría por completo los discos. Todo el tiempo las cajas estuvieron expuestas a luz blanca y no ocurrieron cambios bruscos de temperatura.

Preparación del Inóculo. A partir de la extracción de discos, el inóculo se pasó por distintas fases en donde se necesitó de su crecimiento y desarrollo para inocular e infectar foliolos y palmas.

Liberación De Zoosporas. Pasados los tres días de exposición a la luz, se observó al microscopio la cantidad de esporangios. Se observó una cantidad significativa, después, las cajas fueron llevadas al congelador (4 °C) durante 20 minutos, con el objetivo de realizar un choque térmico que estimulo la liberación de las zoosporas. Culminado este tiempo, se agregó agua estéril a las cajas y fueron puestas a temperatura ambiente (25°C) durante 20 minutos, en algunos

casos fue necesario más de los 20 minutos para lograr liberar las zoosporas. Se observó nuevamente las cajas en el microscopio para confirmar la liberación de zoosporas.

Inoculación de Foliolos. Se tomó la caja Petri con el inóculo para la liberación de zoosporas, adicionando una pequeña cantidad de agua estéril, luego se introdujo en la nevera durante 10 minutos para provocar el choque térmico del patógeno, después de haberlo retirado de la nevera se dejó en reposo por 10 minutos para la liberación de las zoosporas, se llevó al microscopio para verificar la liberación; cuando hubo liberación se procedió a inocular, en casos contrarios se cubrió con papel aluminio y se dejó sobre la mesa del laboratorio por 20 minutos provocando el estrés en el patógeno hasta hacerlo liberar las zoosporas.

Pasada la fase de liberación de zoosporas se procedió a infectar foliolos. En la inoculación con foliolos, se prepararon cámaras húmedas elaboradas con bandejas de aluminio, servilletas y mallas tul previamente esterilizadas introduciéndolas en bolsas zip-lock nuevas.

Luego, se extrajeron foliolos de la parte más interna del cogollo cortándolos de tal manera que podían ser introducidos en la cámara húmeda ubicando 20 cortes por bandeja. Se adiciono una gota de suspensión de zoosporas en la base de cada foliolo cortado, finalizado el proceso la bandeja se introdujo en la bolsa zip-lock dejando en laboratorio y observando al cuarto día la aparición de las primeras lesiones.

Finalmente, después de 3 días cuando los foliolos presentaron una lesión considerable, fueron llevados al umbráculo y se situaron en el paquete de flecha más joven de la palma.

Componente de Campo

Inoculación de Palmas en Umbráculo. Es necesario contar con los siguientes materiales:

- Pinzas de metal
- Alcohol al 96%
- Guantes de carnaza
- Cinta de papel
- 1 Balde

Se tomó con una pinza debidamente esterilizada los foliolos infectados y se inoculo la flecha de la palma en donde se abrió la parte más tierna para colocar el foliolo cuidadosamente sin causar herida, luego se selló con una cinta de papel y se regó directamente hasta quedar completamente húmeda. Completado el procedimiento se realizó un seguimiento en donde se observó cada 15 días el comportamiento de la planta.

Evaluación de la Inoculación. Pasados 15 días de la inoculación de las palmas, se realizó el censo de severidad diseñado por Cenipalma (ver apéndice A.), y se observó el sitio de la inoculación para verificar si hubo formación de lesiones. Estos datos fueron tomados en una planilla y se tomó foto para dejar registro del censo realizado.

Resultados y discusión

Los procedimientos expuestos y descritos a continuación hacen parte de la validación a la metodología desarrollada por Vélez y colaboradores en (2008). La cual fue modificada y adaptada para la selección de material.

Para el procedimiento del laboratorio y validando la metodología se procedió al mantenimiento y multiplicación de *P. palmivora* donde por medio de agar zanahoria (jugo de zanahoria más agar) se siembra este patógeno. Al llevar acabo el tiempo requerido se comenzó a multiplicar discos de la caja ya sembrada y se las pasó a una nueva caja que contenía jugo de zanahoria pobre. La cual se desarrolló para ser llevada al proceso de inoculación.

Después de la liberación de zoosporas, se procedió a inocular los foliolos, estos foliolos fueron llevados al umbráculo en donde con herramientas esterilizadas y alcohol al 96% se comenzó a poner el foliolo en la parte más tierna de la palma (flecha).

Por un tiempo requerido de quince días, se ejecutó la medición a la respuesta de la palma donde presentaban los síntomas de la enfermedad en diferentes grados de severidad, escala desarrollada por Cenipalma (Martínez y Torres, 2008). Donde se llevó a la selección del material promisorio de comportamiento favorable a la PC.

Activación en manzana

Luego de tres días de dejar las manzanas en cámara húmeda, se observaron lesiones en la manzana (Figura 1). Este método de trampeo resultó ser eficiente para el aislamiento de *P. palmivora*. Resultados de Martínez *et al.*, (2010), también fueron satisfactorios para el

crecimiento de este patógeno, no solo en manzana sino también en cacao, pera y pomarrosa de Málaga.

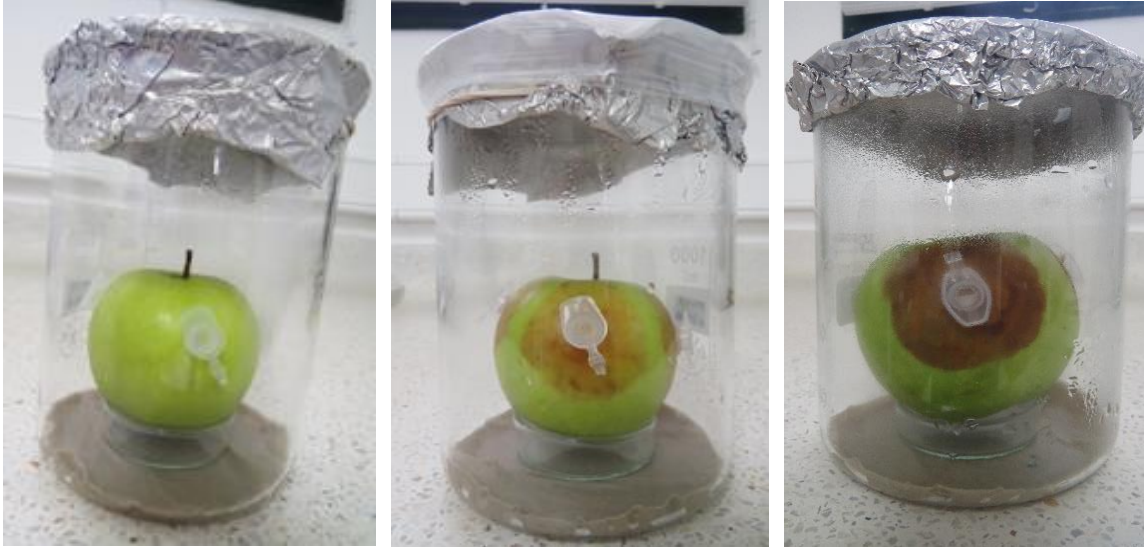


Figura 2: Proceso de reactivación de *P. palmivora* en manzana: a) Siembra de tejido infeccioso, b) Crecimiento del patógeno, c) Crecimiento de la lesión.

Multiplicación del Inoculo

Luego de colocar los cortes de las zonas lesionadas de las manzanas en el medio agar zanahoria, se observó crecimiento de micelio en la superficie del medio a los 3 días después (Figura 2), que además de ser un signo de *P. palmivora*, es un indicador de crecimiento y multiplicación del oomicota para elaborar el inoculo en suspensión.



Figura 1: Nótese el micelio algodonoso de *P. palmivora* sobre medio agar zanahoria, pasados tres días de incubación.

Inoculación de foliolos

2 días después al tiempo de la inoculación, se observó cambios macroscópicos. En el sitio donde se aplicó la gota de inóculo (Figura 3), se observa un halo acuoso que se torna de color marrón y ha aumentado su tamaño al doble del tamaño de la gota (Figura 3c), esta coloración se da por la pudrición húmeda que posteriormente se necrosa al avance de las lesiones cuando *P. palmivora* empieza a desarrollarse hasta colonizar los tejidos vecinos.



Figura 2: De izquierda a derecha: a) inoculación con uso de micropipeta de los foliolos, b) foliolos inoculados, c) avance de la lesión de *P. palmivora*, d) foliolos infectados con PC.

Se realizaron observaciones microscópicas en los folíolos a las 2 horas después de inocular, se encontraron zoosporas germinando sobre el tejido del folíolo (Figura 4). 2 días después de la inoculación, se observaron esporangios en mayor número, pero también algunas clamidosporas (Figura 5).

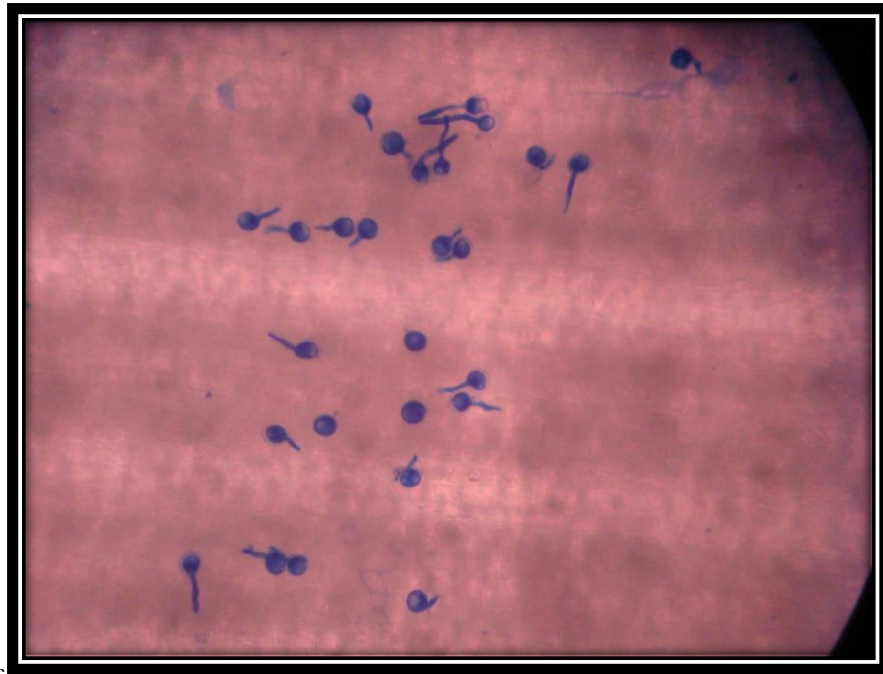


Figura 3: Zoosporas germinando 2 horas después de inocular a 40 X. (Fabián Moreno 2017).

Muestra de zoosporas germinadas casi 6 horas después de inocular y esporangios y clamidosporas a las 24 horas después de inocular.

Esto es similar con resultados de Vélez *et al.*, (2013), donde nos menciona que después de catorce meses de una primera inoculación estaba el patógeno ahí. Los esporangios fueron observados con microscopia de fluorescencia teñidos con dapi, (técnica que tiñe de azul los núcleos que están viables); donde se encontró con estructuras en el tejido, por lo que son catalogadas como estructuras de resistencia, las cuales permiten al patógeno continuar con su proceso infectivo, al cabo de haber pasado cierta cantidad de tiempo las estructuras del patógeno

van a continuar replicando la enfermedad. Es decir, se tuvo nuevamente a *P. palmivora*, por lo que hemos hecho un recorrido completo de los Postulados de Koch.

El método de infección e inoculación funciona debido a que estamos ante el microorganismo del agente causante de la pc, un microorganismo capaz de causar la enfermedad, sostenerse en el tiempo dentro de una planta enferma si las condiciones y los palmeros se lo permiten. Se debe prevenir con una detección temprana. Y, finalmente, la presencia de signos del patógeno en las lesiones observadas confirma que *Phytophthora palmivora* es el responsable de ellas, como siempre, esto se corrobora en todas nuestras pruebas Vélez et al., (2013).

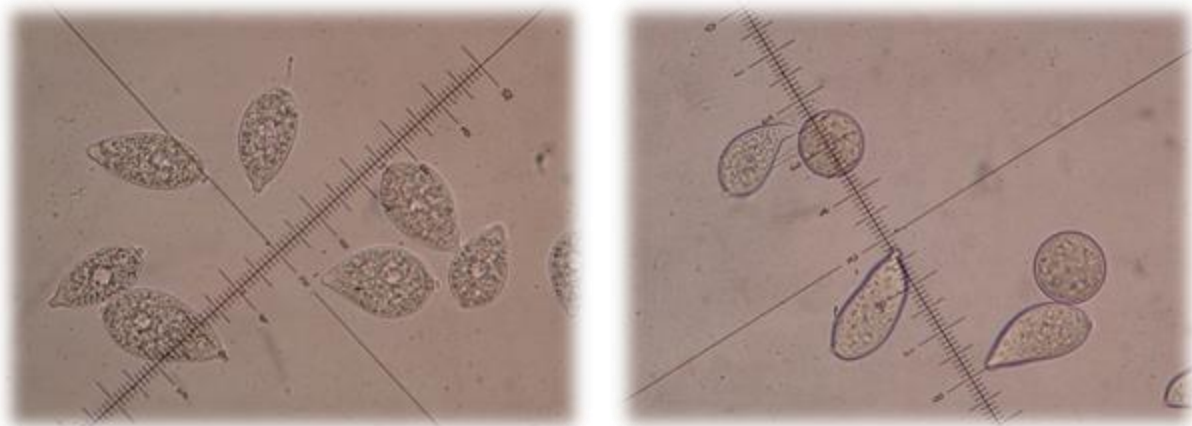


Figura 4: Estructuras de *P.palmivora*. Izq. Esporangios con objetivo 40X. Der. Esporangios y clamidosporas; nótese la forma circular a 40 X.

Inoculación de palmas en umbráculo

Una vez los cortes de los folíolos fueron infectados, se trasladaron a campo realizando la inoculación sin realizar herida, abriendo la parte más tierna hasta ubicar el folíolo inoculado (figura 6). Al pasar 15 días de la inoculación se realizó el censo, en los que se reportaron síntomas de *P. palmivora*.



Figura 5: a) Apertura del foliolo, b y c: ubicación de foliolo inoculado en la palma del umbraculo.

Incidencia por CC (Código Cruzamiento)

La incidencia fue el primer filtro utilizado para seleccionar los cruzamientos. Para ello se estableció que los cruzamientos cuya incidencia fuese igual a 0% en todos los censos, serían los ideales para una óptima selección. Sin embargo, no se encontró ningún CC que tuviese una incidencia de 0% en los cinco censos realizados. De los 262 cruzamientos, 214 tuvieron al menos un censo con incidencia igual a 0%. 106 CC tuvieron dos censos en 0% y solo 2 CC llegaron a tener una incidencia del 0% en tres censos (ver Tabla 2). Las 10 repeticiones de los CC: 70 y 285 se mantuvieron sanos durante tres censos consecutivos (censo 3 4 y 5). En el censo 1, no se encontró ningún CC con incidencia de 0% es decir que todos los 262 cruzamientos tenían en al menos una repetición síntomas de PC. En el censo 2, solo el CC: 41 en sus diez repeticiones fue capaz de resistir el ataque de *P. palmivora* en 15 días, cuando la incidencia estaba cerca del 37%.

Tabla 2

Resultado de la tabulación; Códigos de los cruzamientos Angola x Yangambi con incidencias de 0% de PC durante los censos

Código Cruzamiento	CENSO				Total Censos con incidencia 0%	Código Cruzamiento	CENSO				Total Censos con incidencia 0%
	2	3	4	5			2	3	4	5	
19			-	-	2	191			-	-	2
34			-	-	2	194			-	-	2

40	-	-	2	203	-	-	2
41	-	-	2	207	-	-	2
45	-	-	2	211	-	-	2
49	-	-	2	218	-	-	2
55	-	-	2	223	-	-	2
61	-	-	2	227	-	-	2
65	-	-	2	261	-	-	2
66	-	-	2	263	-	-	2
67	-	-	2	267	-	-	2
70	-	-	3	271	-	-	2
85	-	-	2	279	-	-	2
92	-	-	2	283	-	-	2
98	-	-	2	285	-	-	3
104	-	-	2	290	-	-	2
108	-	-	2	294	-	-	2
130	-	-	2	295	-	-	2
134	-	-	2	296	-	-	2
149	-	-	2	297	-	-	2
150	-	-	2	302	-	-	2
151	-	-	2	303	-	-	2
160	-	-	2	352	-	-	2
162	-	-	2	495	-	-	2
181	-	-	2	499	-	-	2
190	-	-	2	502	-	-	2
Total			53	Total			53

Nota: Las casillas marcadas indican que no se reportó ninguna lesión. En el censo 1 no se reportó ningún CC con incidencia = 0%.

Incidencia por Censo

La enfermedad estuvo presente en los cinco censos realizados (figura 7), pero solo en el censo 1 y 2 la incidencia supero el 20%. En el censo 1 se presentó más de 50% de incidencia, es decir, un poco más de 1300 palmas con presencia de PC. Se observó como a medida del tiempo, del censo 1 al censo 4 la incidencia tiende a disminuir, empezando en el censo 1 con un 55.2% hasta bajar al censo 4 con 9.63 %, y para el censo 5 aumenta la incidencia a 13.3%.

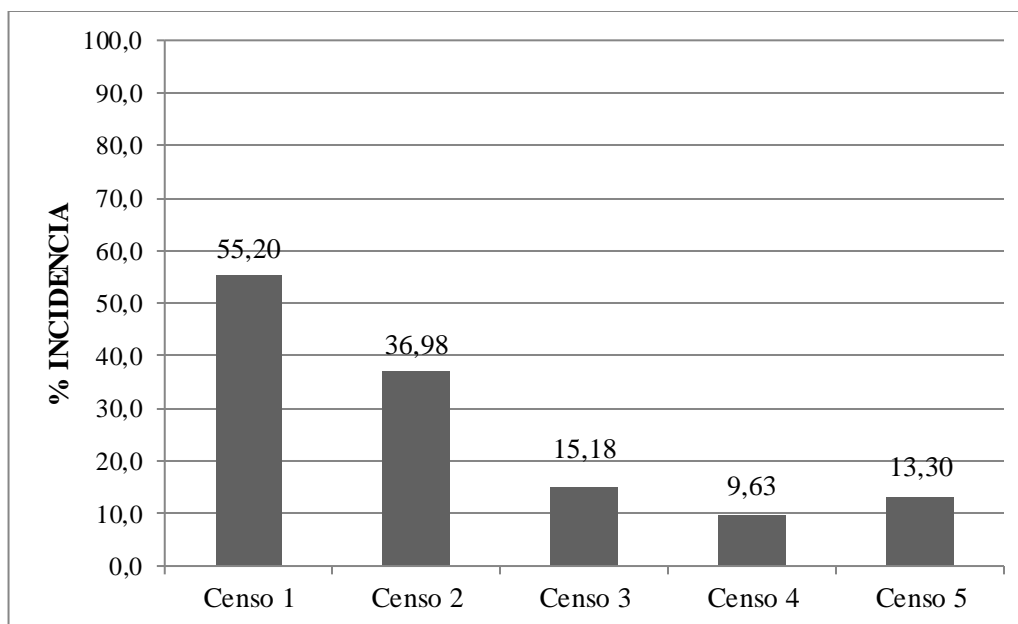


Figura 6: Incidencia de las 2616 palmas evaluadas para cada Censo.

El comportamiento de la incidencia es cada vez menor en cada censo y puede que se deba a que las palmas en respuesta al ataque de *P. palmivora* activen sus mecanismos defensivos reconociendo en cada inoculación el patógeno. También puede deberse a que, al realizarse la inoculación en distintos meses, la variación de la temperatura en el ambiente influya para que el desarrollo del patógeno haya sido favorable o desfavorable si se tiene en cuenta que resultados de inoculación *in vitro* de Vélez *et al.*, (2013), señala que a una temperatura de 25 °C es adecuada para el crecimiento de *P. palmivora*. Por otro lado, al no llevar una concentración definida de inculo en los folíolos utilizados para la inoculación de palmas en el umbráculo, podría alterar la presión de inculo que asegura una infección y un desarrollo adecuado de la enfermedad (Hood y Steward, 1957) y en consecuencia obtener resultados inadecuados para el ensayo.

Severidad

En los resultados de los cinco censos realizados, en las 2616 palmas censadas, el grado 0 de severidad (sin lesión) fue el más frecuente para todos los censos excepto el censo 1 en donde el grado 1 fue más frecuente (ver Tabla 3). Las evaluaciones que determinaron el grado 1, muestran una tendencia a disminuir en cada censo y a aumentar la frecuencia del grado 0. Del grado 1 de severidad se observaron síntomas leves como se muestra en la Figura 8a.



Figura 7: De izquierda a derecha: a) Grado 1, b) grado 2 y c) grado 3 de severidad, notese que la evaluación es subjetiva con ayuda de una regla.

El grado 2 de severidad, tuvo la frecuencia más alta en el censo 1 con aproximadamente 40 palmas, la lesión se puede observar en la Figura 8b. El grado 3 de severidad tuvo sus picos más altos en los censos 1 y 5, con un máximo de 12 palmas en cada uno. Las lesiones fueron moderadas (Figura 8c). No se encontró ninguna palma con grado 4 y 5 de severidad, pero si llegó a encontrarse cráter.

Tabla 3
Frecuencia de los grados de severidad para cada censo

Grado	% para cada censo				
	1	2	3	4	5
0	44,85	63,02	84,85	90,38	86,72
1	53,09	36,64	14,31	8,85	12,21
2	1,53	0,11	0,27	0,19	0,27
3	0,46	0,15	0,19	0,15	0,34
Cráter	0,08	0,08	0,38	0,42	0,46

Los datos de severidad fueron tabulados por CC de cada censo. Se tomaron en cuenta los resultados de la sumatoria de los cinco censos ordenandos de menor a mayor valor. Luego se dio prevalencia a los censos 1 y 2, debido a que, en estos, la incidencia tuvo los más altos porcentajes de PC del total de los censos, de este modo el rango de códigos se redujo y se pudo hacer seguimiento y evaluación. Una vez aplicados los filtros de selección a los resultados parciales, se elaboró una lista en forma de “ranking” de los que mejor respuesta tienen ante la inoculación de *P. palmivora* (ver Tabla 4). Resulto que 26 códigos cumplen los filtros de selección establecidos en la metodología. El CC 67 se enlista como el que mejor tolera la PC, en este código se observó que la incidencia más alta la tuvo en el censo 2 llegando al 30% es decir; 3 de 10 repeticiones con presencia de PC, y en cada uno de los censos 1 y 3 solo una palma tenía lesiones de *P. palmivora*. En el censo 4 y 5 no se reportaron lesiones para este código por lo que se podría decir que presenta resistencia moderada a las inoculaciones con el patógeno *P. palmivora* que es el agente causal de los primeros daño de PC. Por otro lado, la severidad del CC 67 en los censos 1, 2 y 3, fue de grado 1 en cuatro repeticiones.

Tabla 4

Resultados de los filtros aplicados a los datos de severidad para seleccionar los CC con mejor respuesta a la inoculación de P. palmivora

Código Cruzamiento	Promedio Ponderado de Severidad					Sumatoria
	CENSO 1	CENSO 2	CENSO 3	CENSO 4	CENSO 5	
67*	1	3	1	0	0	5
150*	2	2	0	2	0	6
229	2	2	0	1	1	6
55*	3	2	0	1	0	6
283*	3	2	0	0	1	6
502	3	2	1	0	0	6
129	3	2	1	1	0	7
295*	3	3	0	0	1	7
34*	4	2	0	1	0	7
70*	4	4	0	0	0	8
49*	4	3	0	0	1	8
281	4	2	1	0	1	8
118	2	2	1	1	3	9
303*	3	4	0	0	2	9
73	4	1	2	0	2	9
280	4	2	0	2	1	9
19*	4	4	1	0	0	9
92*	4	4	0	1	0	9
194*	4	4	1	0	0	9
142	3	2	3	1	1	10
266	3	3	1	1	2	10
38	3	4	2	0	1	10
35	4	3	2	0	1	10
162*	4	3	3	0	0	10
264	4	3	1	1	1	10
360	4	4	0	1	1	10

Nota: * Códigos que están reportados en la tabla 1 con incidencia = 0 %.

El CC 150, llegó a tener 30% de incidencia en el censo 2, sin embargo, en los censos 1 y 4 llegó a tener incidencia de 20%, y en cinco repeticiones se reportó severidad de grado 1. Por ahora podemos decir que los cruzamientos de la lista de la Tabla 4, son los que presentan tolerancia; debido a que se produjo infección, sus síntomas fueron leves y no parecen afectar el rendimiento, incluso estos CC emitieron nuevas hojas y las hojas jóvenes no se infectaron. El

registro del crecimiento de la lección se tiene en cuenta debido a la constante emisión de hojas en las palmas, donde en muchas ocasiones se registró la inoculación del patógeno en la misma flecha, llevando a que la palma estratégicamente sacara la enfermedad, acelerando así su proceso de crecimiento en hojas siendo tolerante a este patógeno local .

Como un filtro adicional a la Tabla 4, cinco códigos (67, 502, 70, 194 y 162), en los últimos dos censos realizados no reportaron ningún tipo de lesión, donde su resistencia sobresalió por el bajo porcentaje de incidencia, tomándolos como los CC de resistencia media con respecto a los demás seleccionados de la Tabla 4.

Cráter

Durante los censos se encontraron 12 CC que tenían lesión tipo cráter (Figura 7). En dos casos; CC 273 y 497, se les encontró este tipo de lesión avanzada en los cinco censos realizados. Por cada código de la Tabla 5, se reportó una repetición con este tipo de lesión de las diez repeticiones. Nunca se encontró más de un cráter en las repeticiones por censo. La susceptibilidad de los CC ante la inoculación de *P. palmivora* se refleja en la frecuencia en que aparecen estas lesiones para cada censo. Dejando de antevisto que estos CC son susceptibles a *P. palmivora*, en un tiempo de 15 días o menos, desde el momento en que ocurre la inoculación en la flecha de la palma.

Tabla 5

Resultados de filtros aplicados para hallar códigos con cráter

Código Cruzamiento	CENSO				
	1	2	3	4	5
81			-	-	-
165			-	-	-
196			-	-	-
208			-	-	-
214			-	-	-
234					-

237				-	-
273*	-	-	-	-	-
274				-	-
276				-	-
287				-	-
497*	-	-	-	-	-

Nota: Las casillas marcadas indican que se reportó cráter.

Por otro lado, se tuvo en cuenta que los censos 1 y 2 fueron los de mayor incidencia, solo vemos que dos CC presentaron cráter y aumenta notablemente a tener diez CC en el censo 3 cuando la incidencia estuvo cerca del 15%, Tabla 5. Esto hace pensar que las constantes inoculaciones, la susceptibilidad de estos CC al patógeno, llevaron a la muerte de la palma. En este tejido se encuentran las condiciones para que inicie el proceso de infección con *P. palmivora* y dependiendo de las condiciones ambientales y otros factores externos, puede continuar solo o con la participación de otros microorganismos oportunistas o insectos, conduciendo a situaciones más complejas (Martínez, 2008).



Figura 8: Cráter, nótese que la palma deja de emitir hojas a causa de la pudrición avanzada de *P. palmivora*.

Conclusiones

- El método se llevó a cabo por medio de los resultados obtenidos en la escala de severidad y por los porcentajes de incidencia reportados en lesiones de la palma, se pudo validar que la inoculación con *P. palmivora* sobre un foliolo previamente colonizado sirve para medir la respuesta de plántulas de palma africana frente a *P. palmivora*.
- La respuesta de la palma a la inoculación generó resultados parciales en los que por medio de filtros se dejó una lista de 26 cruzamientos distintos seleccionados que presentan tolerancia a la pudrición del cogollo y 5 de ellos como los que respondieron mejor ante la inoculación de *P. palmivora*.
- se concluyó que son eficientes y se adaptan a los métodos de selección temprana de palma de aceite bajo condiciones semicontroladas en umbráculo. La aparición de lesiones tempranas de PC al tiempo de inocular en campo indica la incubación del patógeno en las palmas.

Aportes

Aprendizaje de pasantía

- Mis bases teóricas de conocimiento y desarrollo se profundizaron en gran medida con los diferentes procesos y manejos a la PC.
- Aporte creativo y dinámico en las diferentes labores de campo.
- Fortalecimiento a mis conocimientos sobre el cultivo palma.
- Claridad en las recomendaciones y procedimientos con el agente causal *P. palmivora*.
- Recomendaciones basadas en mi observación durante las prácticas de campo en otras plantaciones con respecto al manejo integrado plagas, a la manipulación del patógeno en laboratorio y labores agrícolas.

Los conocimientos aprendidos en la universidad de Nariño:

Aportaron mi iniciativa para sacar adelante un proceso trascendental como el estudio de una enfermedad que causa tanto impacto entre los pequeños cultivadores como es la Pudrición de Cogollo.

Recomendaciones

Una vez concluido el trabajo, se considera interesante investigar sobre otros aspectos relacionados con las formas de seleccionar un material vegetal con posible resistencia a un patógeno y se propone:

- Trabajar con los CC que respondan mejor al finalizar en este ensayo en métodos de selección intrapoblacional con el método de selección masal simple que es efectiva para caracteres de alta heredabilidad.
- Aplicar los estudios expuestos en este trabajo con otras variedades de *Elaeis guineensis* para ampliar la variabilidad genética tolerante a la PC.
- Implementar técnicas para la cuantificación de la severidad de enfermedades con precisión como los análisis de imágenes digitalizadas, fotografía infrarroja, termografía Infrarroja, entre otras. Aunque es inicialmente costoso, facilita y aumenta la precisión para seleccionar códigos representativos ante la PC.

Lista de referencias

- Amblard, P., Billotte, N., Cochard, B., Durand-Gasselín, T., Jacquemard, J., Louise, C., Nouy, B. and Potier, F. (2004). *El mejoramiento de la palma de aceite *Elaeis guineensis* y *Elaeis oleifera* por el Cirad-CP*. Palmas - Vol. 25 No. Especial, Tomo II, 2004, [online] 25(Especial, Tomo II). Disponible en: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1094/1094> [Accessed 16 Mar. 2017].
- Arias, N.; Obando, O.; Motta, D.; Mosquera, M.; Gómez, P.; Franco, P.; Álvarez, M.; Betancourt, F.; Díaz, D.; Bernal, P. (2009). *Principios agronómicos para el establecimiento de una plantación de palma de aceite*. Op Gráficas, Bogotá. 1-175
- Benítez, D. (2017). *Palma de aceite producida por la empresa el Palmar del Llano S.A* - Monografias.com. Monografias.com Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos68/palma-aceite-palmar-llano-sa/palma-aceite-palmar-llano-sa.shtml>
- Burgos R., C. (2011). *Medios de vida adoptados por los habitantes del núcleo productivo de palma de aceite en la vereda de Imbili, municipio de Tumaco, zona occidental de Colombia como respuesta a la crisis económica y social causada por la enfermedad pudrición del cogollo (PC)*. [Online] Bogotá: Autor, pp. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/1554/BurgosRodriguezCarlosAndres2011.pdf?sequence=1>
- Corley, R., & Tinker, P. (2003). *The oil palm* (4th ed.). Oxford: Blackwell Science Ltd. 234 p. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/experimental-agriculture/article/the-oil-palm-4th-edition-edited-by-r-h-v-corley-and-p-b-tinker-oxford-blackwell-publishing-2003-pp-284-11500-isbn-0-632-05212-0/69126CDC2F9D57C604839EB4336687DB>
- Corredor Ríos, A., Martínez López, G., & Silva Carreño, Á. (2008). *Problemática de la Pudrición del cogollo en Tumaco e instrumentos para su manejo y la renovación del cultivo*. Palmas, 29(Especial). Disponible en: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/viewFile/1353/1353>
- Cristancho R., J. (2012). *Evaluación de la logística, aplicación y ejecución del programa de fertilización en el cultivo de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq) en la plantación yaguarito de aceites manuelita S.A*. Universidad De Los Llanos. Disponible en: <http://repositorio.unillanos.edu.co/jspui/handle/001/172>
- Drenth, A. y Sendall, B. (2001) *Practical guide to detection and identification of Phytophthora*. CRC for Tropical Plant Protection. Brisbane, Australia. 41p. Disponible en: <http://docplayer.net/17681728-Practical-guide-to-detection-and-identification-of-phytophthora.html>

- Espinosa A., V. (2017). *Putridión del Cogollo Ficha Técnica N°51* . gob.mx. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/215904/27_Ficha_Tecnica_-_Putridion_del_cogollo.pdf
- Fairhurst, T., Hardter, R., (2003). *From area expansion to yield intensification*. In: Fairhurst, T.H., Hardter, R. (Eds.), *The Oil Palm: Management for Large and Sustainable Yields*. Potash & Phosphate Institute of Canada (ESEAP), Singapore, p. 382
- Es.climate. (2017). *Clima Tangareal del Mira: Temperatura, Climograma y Tabla climática para Tangareal del Mira* - Climate-Data.org. Es.climate-data.org. Recuperado el 14 de Julio 2017, de <https://es.climate-data.org/location/1044429/>
- Franqueville, h. de. (2001). *la pudrición del cogollo de la palma aceitera en américa latina. Revisión preliminar de hechos y logros alcanzados*. cirad. 35 p. Disponible en: <http://www.bionica.info/biblioteca/Franqueville%202001%20pudricion%20cogollo%20palma%20aceitera.PDF>
- García C., R., Núñez M., A., Ramírez O., T. & Jaimes S., S. (2013). *Caracterización de la fase upstream de la cadena de valor y abastecimiento de la agroindustria de la palma de aceite en Colombia*. dyna, 80(179), 79-89. Disponible en: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/30357/45308>
- Hernández T., T., & Montoya H., R. (1987). *Epidemiología Cuantitativa Aplicada Al Analisis de Algunas Enfermedades de Cultivos Tropicales* (p. 11). Peru, Universidad Nacional Agraria de la Selva Programa de sanidad vegetal: IICA. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=qtMOAQAAIAAJ&pg=PA11&dq=patometria&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiNgoznp4nVAhXIICYKHxEhAq8Q6AEIJTAA#v=onepage&q=patometria&f=false>
- Hood, R., & Steward, R.N.(1957). *Factors affecting symptoms expression in Fusarium wilt of Dianthus* Phytopathology 47: 173-178
- Hormaza Martínez, P., Forero Hernández, D., Ruiz Romero, R., & Romero Angulo, H. (2010). *Fenología de la palma de aceite africana (Elaeis guineensis Jacq.) y del híbrido interespecífico (Elaeis oleifera x Elaeis guineensis)*. Bogotá: Equilibrio Gráfico Editorial Ltda. Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – Colciencias y Centro de investigación en palma de aceite – Cenipalma, Bogotá D.C. Disponible en: http://gsem.weebly.com/uploads/9/3/5/1/9351412/fenologa_de_la_palma_de_aceite_africana_y_del_hbrido_interespecfico.pdf
- Jourdan, C., Nicole Michaux-Ferrière, Gérald Perbal, (2000). *Root System Architecture and Gravitropism in the Oil Palm*, *Annals of Botany*, Volume 85, Issue 6, Pages 861-868,

- ISSN 0305-7364, <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.2000.1148>. Disponible en:
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030573640091148X>)
- Laing, D. (2010). *Causa de la pudrición de cogollo en la palma de aceite papel del calcio en una hipótesis abiótica-edáfica. XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo*. Santo Domingo, Ecuador. 17 -19 Noviembre 2010:24. Disponible en:
<https://lapalmadeaceite.wikispaces.com/file/view/Presentacion+Pudricion+de+Cogollo+Rol+de+Ca+Octubre+04+2011+.pdf>
- Martínez, G., Sarria, G., Torres, G., & Varon, F. (2010). *Phytophthora palmivora es el agente causal de la pudrición del cogollo de la palma de aceite*. Palmas, 31(Especial).
Disponible en:
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1538/1538>
- Martínez, G., Arias, N., Sarria, G., Torres, G., Varón, F., Noreña, C., Salcedo, S., Aya, H., Ariza, J., Aldana, R., Martínez, L., Moya, Ó. and Burgos, C. (2009). *Manejo integrado de la Pudrición del cogollo (PC) de la Palma de aceite*. [ebook] Bogotá: Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma). Disponible en:
<http://web.fedepalma.org/bigdata/fito/prevenir/manejointegradodelapcdelapalmadeaceite.pdf>
- Martínez, G., Sarria, G.A., Torres, G.A., Varón, F., Drenth, A. y Guest, D.I. (2014) *Nuevos hallazgos sobre la enfermedad de la Pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia: biología, detección y estrategias de manejo*. Palmas, 35(1), 11-17. Disponible en: https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/10942_1
- Martínez López, G., & Torres L., G. (2007) *Presencia de la Pudrición de Cogollo de la palma de aceite (PC) en plantas de vivero*. Palmas, 28(4). Disponible en:
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/download/1232/1232>
- Nieto P., L. (1993). *El complejo Pudrición de cogollo de la Palma de Aceite*. Las Palmas, 14(1).
Disponible en:
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/download/365/365>
- Rey B., L., Gómez C., P., Ayala D., I., Delgado A., W. and Rocha S., P. (2004). *Colecciones genéticas de palma de aceite Elaeis guineensis (Jacq.) y Elaeis oleifera (H.B.K.) de Cenipalma: Características de importancia para el sector palmicultor*. PALMAS, [online] 25(Especial, Tomo II). Disponible en:
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/download/1065/1065>
[Accessed 14 Apr. 2017].
- Rivas F., Moreno F, Rivera F. C., Galán Á., Herrera I., Lidcay, & Leiva M., M. (2017). *Incidencia, progresión e intensidad de la Pudrición del Cogollo de Elaeis guineensis Jacq. en San Lorenzo, Ecuador*. Centro Agrícola, 44(1), 28-33. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852017000100004&lng=es&tlng=es.

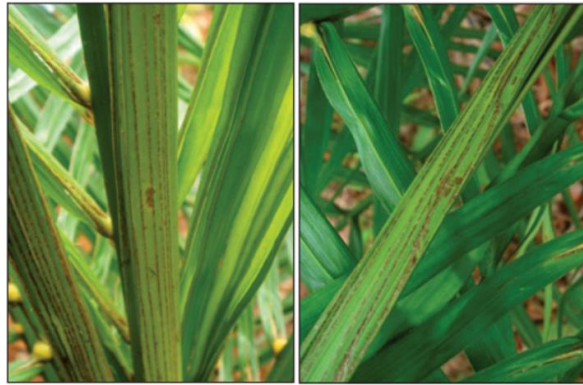
- Trénel P., Mats H.G. Gustafsson, William J. Baker, Conny B. Asmussen-Lange, John Dransfield, Finn Borchsenius, (2007). *Mid-Tertiary dispersal, not Gondwanan vicariance explains distribution patterns in the wax palm subfamily (Ceroxyloideae: Areaceae)*, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Volume 45, Issue 1, Pages 272-288, ISSN 1055-7903, Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790307000954>
- Van de Lande, H., & Zadoks, J. (1999). *Spatial patterns of spear rot in oil palm plantations in Surinam*. *Plant Pathology*, 48(2), 189-201. Disponible en: <http://onlineibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3059.1999.00331.x/pdf>
- Vélez, D., Rodríguez, J., Mestizo, Y., Noreña, C., Sarria, G., Varón, F., & Martínez, G. (2013). *DESARROLLO DE Phytophthora palmivora EN FOLÍOLOS INMADUROS DE PALMA DE ACEITE INOCULADOS EN CONDICIONES in vitro*. *Fitopatología Colombiana*, 37(1). Recuperado de <http://ascolfi.org/archivos/revista37-1.pdf>

Apéndice: Escala de grados de severidad de la PC

Grado 0: Flecha Sana



Grado 1: 0.1 - 20 %



Grado 2: 20.1 - 40



Grado 3: 40.1 - 60 %



Grado 4: 60.1 - 80 %



Grado 5: 80.1 - 100 %



Fuente: Tomado de Martínez & Torres (2007)

