PROCESO DE POLINIZACION ASISTIDA INTELIGENTE EN PALMAS OLEAGINOSAS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

El objeto de la presente solicitud se ubica en el campo de la producción agronómica para cultivos de palmas oleíferas, especialmente para las variedades *elaeis oleífera*, *elaeis guineensis* y sus híbridos interespecíficos *E. oleifera* x *E. guineensis (OxG)*. Específicamente, la solicitud en estudio reclama un proceso de optimización en la polinización asistida de las palmas a partir de la parametrización y caracterización físico-química de las flores femeninas y de los compuestos orgánicos volátiles que estas producen. De acuerdo a lo anterior, el sector tecnológico en el que se ubica la invención es el de la biología.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

En el estado de la técnica se conocen diferentes productos y métodos para mejorar el rendimiento de las palmas aceiteras, sin embargo, existen dos necesidades a satisfacer de forma inmediata, una es caracterizar en varias etapas los compuestos orgánicos volátiles (COVs) presentes en los diferentes momentos o estados de antesis y sus concentraciones, y otra ubicar y programar sensores de gases que indiquen el momento óptimo de antesis para polinizar todo el material en la palma asegurando un mayor porcentaje de fruto por racimo y a su vez elevar el contenido de aceite disponible a extraer.

Dentro del estado de la técnica encontramos solicitudes de patente que se relacionan con producción agronómica para cultivos de palmas oleíferas, entre ellas encontramos, la solicitud internacional con número de referencia **WO2013089557** titulada ***"METHODS FOR OBTAINING HIGH-YIELDING OIL PALM PLANTS"*** que se refiere a métodos para obtener una planta de palma aceitera de alto rendimiento, dicho método comprende determinar el nivel de un metabolito en el tejido mesocarpial de una fruta de una planta de palma aceitera parental 11 a 23 semanas después de la polinización de la misma, determinar si existe una diferencia entre este nivel y el nivel del metabolito en el tejido del mesocarpio de una fruta de una planta de palma aceitera de referencia, también 11 a 23 semanas después de la polinización del mismo, en donde la diferencia es que el nivel del metabolito es al menos un 15% más alto, o al menos un 5% más bajo, para la planta parental de palma aceitera en relación con la planta de palma aceitera de referencia y la selección de la progenie de la planta parental de palma aceitera en función de la diferencia para obtener la planta de palma aceitera de alto rendimiento. También se proporcionan métodos para predecir el rendimiento de aceite de una planta de palma aceitera de prueba y kits para obtener una planta de palma aceitera de alto rendimiento.

De forma resumida, el método para obtener una planta de palma aceitera de alto rendimiento del citado documento consiste en (i) determinar el nivel de un metabolito en el tejido de mesocarpio de un fruto de una planta parental de palma aceitera de 1 a 23 semanas después de la polinización del mismo, (ii) determinar si existe una diferencia entre el nivel del metabolito en el tejido de mesocarpio del fruto de la planta parental de palma aceitera y el nivel del metabolito en el tejido de mesocarpio de un fruto de una planta de palma de aceite de referencia, también 11 a 23 semanas después de la polinización

del mismo, en donde la diferencia es que el nivel del el metabolito en el tejido de mesocarpio de la fruta de la planta parental de palma aceitera es al menos un 15% más alto que el nivel del metabolito en el tejido de mesocarpio de la fruta de la planta de palma de aceite de referencia; y (iii) selección de la progenie de la planta parental de palma aceitera en función de la diferencia para obtener la planta de palma aceitera de alto rendimiento (metabolitos). Además, en las etapas que involucran determinar si existe una diferencia, estas pueden llevarse a cabo comparando los niveles respectivos del metabolito, por ejemplo, mediante una técnica analítica seleccionada del grupo que consiste en cromatografía de gases-espectrometría de masas, cromatografía líquida-espectrometría de masas, capilar electroforesis-espectrometría de masas, un ensayo bioquímico o un ensayo químico, esto quiere decir que la caracterización se realiza en la pulpa o mesocarpio del fruto no en las inflorescencias.

Adicionalmente, en el estado del arte encontramos la solicitud china referenciada como **CN105613525** y titulada "**CONDITIONING AGENT FOR INCREASING PISTILLATE FLOWERS OF ELAEIS GUINEENSIS JACG AND PREPARATION METHOD AND UTILIZATION METHOD OF CONDITIONING AGENT"** que revela un agente acondicionador para aumentar las flores pistiladas o flores carpeladas de *Elaeis guineensis Jacg*, un método de preparación y un método de utilización del agente acondicionador. El agente acondicionador está compuesto por un agente acondicionador de crecimiento de plantas y agua con una concentración en agua de 700-1500 ppm. En la preparación, el agente acondicionador del crecimiento de las plantas y el agua se deben mezclar bien para obtener el agente acondicionador para aumentar las flores pistiladas de *Elaeis guineensis Jacg*. En la utilización del agente acondicionador, el agente acondicionador se pulveriza a todas las hojas de *Elaeis guineensis Jacg* hasta que dicho agente gotea los ápices de

las hojas. El modulador proporcionado por la invención puede romper la coordinación de las hormonas endógenas en la diferenciación de la yema de la palma aceitera, de modo que los niveles de hormonas endógenas o la nueva coordinación entre sí tienden a diferenciarse en hembras, y aumentan el número de flores femeninas y el rendimiento en la producción de mazorcas frescas.

El componente funcional del acondicionador para mejorar la cantidad de flores hembras de palma aceitera de la citada invención es un regulador del crecimiento de plantas, y su concentración adecuada es de 700-1500 ppm (concentración en porcentaje de masa, que representa el porcentaje del regulador del crecimiento de las plantas en la masa del regulador). Esta concentración de regulador actúa sobre las hojas de las plantas de palma aceitera y puede desempeñar un importante papel regulador. Preferiblemente, la concentración del acondicionador de crecimiento de plantas es de 800 a 1200 ppm, y aún más preferiblemente, la concentración del regulador de crecimiento de plantas es de 900 a 1000 ppm.

Aunque la solicitudes de patentes citadas se refieren a productos y métodos para mejorar la producción agronómica en cultivos de palmas oleíferas estas invenciones distan mucho del método que proponemos en la presente solicitud ya que como revelaremos más adelante estos no revelan las etapas y condiciones novedosas e inventivas de nuestra invención como son caracterizar en 4 etapas los compuestos orgánicos volátiles (COVs) presentes en los diferentes momentos o estados de antesis de las inflorescencias, teniendo en cuenta variables críticas como la edad, variedad de suelo, condiciones climatológicas, la especie y la variedad de la palma a partir de metodologías que se asemejan a los procesos realizados normalmente en los cultivos de palma

que se manejan de forma eficiente sin dejar de lado el carácter estadístico que permite asegurar que los muestreos representan una población total. Posteriormente, esta caracterización permitirá ubicar y programar sensores de gases que indiquen el momento óptimo de antesis para polinizar todo el material en la palma, polinizar en dicho período permite asegurar un aumento en el porcentaje de fruto/racimo, la obtención de mayor cantidad de aceite contenido en la pulpa y a su vez asegurar la conformación de una nuez capaz de entregar aceite de palmiste aprovechable y con un alto valor económico.

DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA INVENCIÓN

Durante los últimos cinco años, la palma africana ha sido uno de los cultivos con mayor expansión en el mundo, con un crecimiento promedio anual del área cultivada por encima del 5%. En 2017, se produjeron aproximadamente 67 millones de toneladas de aceite de palma, según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, siendo Indonesia, Malasia y Tailandia los principales productores con un 88.5% del total. Colombia, Guatemala, Ecuador y Honduras forman parte de los ocho mayores productores mundiales, pero en conjunto solo producen un 4,8% de la producción mundial total. Sin embargo, América Latina no solo tiene el mayor potencial de expansión del cultivo, sino que enfrenta el gran desafío de mejorar la producción por hectárea cultivada.

Los productores latinoamericanos de palma se esfuerzan por diferenciarse de los del Sudeste Asiático, que han sido ampliamente criticados por la deforestación generada. En América Latina, desde 2001, la producción de aceite de palma se ha duplicado y, a diferencia del caso asiático en el que más de la mitad de la expansión ocurrió como resultado de la conversión de bosques a monocultivo, la mayoría de los terrenos donde ha ocurrido esta expansión ha sido un 79% en tierras deforestadas anteriormente, mayormente pastizales para ganado y otros cultivos, y el restante 21% en vegetación leñosa

que incluye, pero no se limita a bosques (BID. Romina, 2018).

Sin embargo, en la región (Latinoamérica) hay países como Guatemala, que tienen el mayor rendimiento del mundo (5,41 toneladas de aceite crudo por hectárea [t/ha] promedio) y otros como Ecuador, cuya productividad (promedio 2,08 t/ha) es la más baja de la región y una de las más bajas del mundo. Por tanto, se requiere de estrategias, de tecnología que mejoren los indicadores de productividad (BID. Romina, 2018).

Frente al aumento progresivo de enfermedades letales que afectan al cultivo de la palma de aceite desde hace más de dos décadas, el cultivo de los híbridos interespecíficos OxG (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) ha sido inevitable en áreas importantes de Colombia y Ecuador, por este motivo las superficies sembradas siguen creciendo. En particular, debido a la Pudrición del cogollo (PC), en algunas zonas ha sido necesario cambiar paulatinamente el material *Elaeis guineensis* (palma africana) por el híbrido (Zambrano, 2015). Según se demostró en Colombia, hace unos años, cuando se presentó la epidemia de la Pudrición del cogollo PC, los cultivos híbridos de palma fueron los más resistentes a esa enfermedad por la cual se presentaron elevadas pérdidas económicas en dicho país (Zambrano, 2015).

A pesar de los beneficios y la resistencia a las enfermedades del cultivo de los híbridos, la cantidad de aceite contenido en este último (OxG), en condiciones de polinización natural, es muy inferior a la de *E. guineensis* debido a la baja eficacia de polinización e ineficiente formación de fruto aceitoso en el racimo (fruit set) que presenta (Rodríguez, Daza, Romero & Angulo, 2011).

La polinización consiste en la inserción del polen proveniente de la sección masculina de una planta en inflorescencias femeninas, con el propósito de

poner en contacto el gametófito masculino con el óvulo y fecundarlo, para esto la planta se debe encontrar en estado de antesis o apertura de la flor, generalmente el polen es transportado a través de las corrientes de viento y/o los polinizadores naturales que vienen siendo pequeños insectos que entran y salen de las flores con la intención de alimentarse o reproducirse. El porcentaje de polen que logra fecundar flores femeninas en las palmas híbridas es sólo del 25 %; una cifra significativamente baja respecto a la palma *E. guineensis* que tiene un polen 65 % viable.

El problema planteado en la presente solicitud consiste en la necesidad de proporcionar un método que permita disminuir las complicaciones agronómicas presentes en los cultivos del híbrido interespecífico *E. oleifera* x *E. guineensis* (OxG) dependiendo de su periodo de antesis y fomentar la producción de racimos de palma con una producción de al menos 15 toneladas/hectárea y que contengan porcentajes de fruto/racimo, fruit set, espiga/fruto, fruto/espiga, pulpa/fruto, nuez/fruto, aceite en pulpa y aceite en racimo similares a los presentes en los racimos provenientes de palmas *elaeis guineensis*.

Para solucionar este problema la solicitud en estudio suministra un proceso que consta de 5 etapas fundamentales: i) Clasificación por lotes ii) Selección de la muestra de palmas, donde se toma una muestra de flores femeninas de forma aleatoria y estadísticamente representativa; iii) Microextracción en fase sólida de compuestos orgánicos volátiles; iv) Caracterización de COVs gases orgánicos volátiles, a partir de técnicas de laboratorio se determinan los diferentes compuestos orgánicos y sus concentraciones; v) Calibración de sensores de concentración de COVs y polinización efectiva.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características del invento, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica del mismo, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un grupo de figuras en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

Figura 1. Variación de la concentración de isopropil, estragol y 6 metil- 5 heptanona. Figura 2. Muestra un diagrama que resume cada una de las etapas del proceso que aseguren la polinización manual en el momento más preciso en términos de la antesis de la flor femenina.

LISTADO DE TABLAS

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión del proceso se incorpora a la descripción:

Tabla 1. Caracterización mediante HS-SPME de los compuestos volátiles emitidos por las inflorescencias de cultivares de palma de aceite.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

De forma resumida la solicitud suministra un proceso que consta de 5 etapas fundamentales:

i) Clasificación por lotes, donde dicha clasificación busca agrupar cultivos con características similares;
ii) Selección de la muestra de palmas, donde se toma una muestra de flores femeninas de forma aleatoria y estadísticamente representativa;
iii) Microextracción en fase sólida de compuestos orgánicos volátiles, en esta etapa se capturan los distintos gases orgánicos producidos en las diferentes

fases reproductivas de las flores femeninas;

iv) Caracterización de COVs gases orgánicos volátiles, a partir de técnicas de laboratorio se determinan los diferentes compuestos orgánicos y sus concentraciones;

v) Calibración de sensores de concentración de COVs y polinización efectiva, después de determinar los volátiles con mayor caudal y concentración se seleccionan y calibran los sensores de manera que permitan darle a conocer al polinizador el momento perfecto para polinizar según el periodo de antesis.

Compuesto	E. Guineensis	E. Oleifera	O*G
Benzaldehído	-	+	-
Etil Hexanol	-	+	-
Isopropil Metoxipirazina	-	+	+
Dimetil Nonatrieno	-	+	-
Linalool	-	+	-
Isobutil Metoxipirazina	+	+	+
Salicilato de Metilo	++	++	+
Estragol	+++	++	+
Propil Anisol	+	+	+
Cis-Anetol	+	+	+
Trans - Anetol	++	+	+
Ciclosativeno	+	+	+
α-Copaeno	-	+	+
β-Elemeno	-	+	+
Tetradecano	+	+	+
Y-Muuroleno	-	+	+
α-Muuroleno	-	+	-
p-Metoxicinamaldehido	+	-	-
Carboxi Isopropil Pentanoicoisobutil Ester	-	+	-
Propanoico Propenidiil Ester	-	+	-
8,15 Primaradieno	-	+	-

Tabla 1. Caracterización mediante HS-SPME de los compuestos volátiles emitidos por las inflorescencias de cultivares de palma de aceite.

En el año 2018 científicos de CENIPALMA lograron captar y caracterizar los compuestos orgánicos volátiles emitidos en las fragancias provenientes de las inflorescencias femeninas y masculinas. En inflorescencias femeninas el número de polinizadores que las visitan puede ser de aproximadamente 2.500 insectos por día, en algunos casos puntuales se han reportado más de10.000 insectos por inflorescencia. Para asegurar la polinización, las inflorescencias femeninas emiten aromas similares a las de las inflorescencias masculinas lo que hace que los polinizadores lleguen transportando los granos de polen en sus cuerpos y se produzca la polinización. El trabajo pretende determinar los compuestos orgánicos presente en cada tipo de palma y asociarlo con algún insecto que reaccione de alguna forma y fomente la polinización.

La tabla 1 muestra la presencia y concentración de los volátiles caracterizados, el signo – representa ausencia del compuesto, + concentración baja, ++ concentración media y +++ alta concentración. Según los datos el estragol se encuentra presente en concentraciones importantes tanto para la variedad *E. oleifera* y *E. guineensis*; por otro lado se debe destacar que existen compuestos que solo se encuentran presente para la variedad oleífera y el híbrido como lo son el Isopropil Metoxipirazina o el α-Copaeno, estos compuestos pueden ser importantes en la selección de un polinizador natural, por este motivo es importante caracterizar los volátiles en distintos momentos del día y en distintos periodos reproductivos como lo contempla la metodología descrita en la invención teniendo en cuenta que cualquier variación en características propias del fruto (variedad, edad) o variables externas (clima, calidad de suelo, densidad de siembra) pueden incidir en las concentraciones de volátiles. Por otra parte, se considera al estragol y al Salicilato de Metilo como marcadores debido a su elevada presencia en todo tipo de palma.

Puntualmente, la gráfica 1 fue obtenida del artículo *"Diurnal Pattern of Leaf, Flower and Fruit Specific Ambient Volatiles above an Oil Palm Plantation in Pará State, Brazil"*[1], como se puede observar las concentraciones de algunos de los volátiles cambian dependiendo de la hora de muestreo, desconoce si este comportamiento está ligado a los demás procesos metabólicos de la planta o a las diferentes etapas de la antesis, por tal motivo es importante delimitar un muestreo aleatorio y representativo que permita generalizar comportamientos y asociarlos no solo con polinizadores sino con el instante más adecuado para realizar la polinización.

La gráfica 2 muestra un diagrama que resume cada una de las etapas del proceso que aseguren la polinización manual en el momento más precisos en términos de la antesis de la flor femenina.

La polinización asistida en la Palma de Aceite OxG o como es conocido en algunos casos *"Alto Oleico"* debido a la elevada concentración de ácido oleico contenido en el aceite extraído, se justifica por la baja o nula viabilidad del polen debido a las bajas poblaciones de polinizadores y la baja atracción de los mismos, lo cual afecta el índice polínico (baja población de insectos, baja población de flores masculinas por hectárea) y esto conlleva a una mala conformación de los racimos, bajas producciones y, por ende, muy baja extracción de aceite por racimo. De ahí la importancia de realizar la polinización asistida. Sin embargo, esta técnica representa sobrecostos que deben reducirse al máximo para mantener una rentabilidad sostenible y competitiva en el mercado de la extracción y comercialización del aceite.

La invención "polinización asistida inteligente" es novedosa e inventiva

[1] "Diurnal Pattern of Leaf, Natalia Niño, Flower and Fruit Specific Ambient Volatiles above an Oil Palm Plantation in Pará State, Brazil"

porque consiste en un proceso que permite realizar la polinización asistida de flores femeninas en cultivos de palmas *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera* y sus híbridos OXG (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) en el *periodo óptimo de antesis*, siendo este identificado a través de la captación de los compuestos orgánicos aromáticos y semi volátiles propios de la inflorescencia masculina o femenina en su etapa reproductiva utilizando tecnologías de cromatografía de gases, espectrometría de masas y sensores que monitorean la concentración de gases in situ.

El proceso de "polinización asistida inteligente" que muestra su altura inventiva en cada una de sus etapas comprende:

ETAPA 1: Clasificación por lotes

Los cultivos de palma para producción industrial están ubicados en extensiones de tierra que abarcan desde 10 hasta 10.000 hectáreas dependiendo de las condiciones geográficas, climatológicas y económicas. En estos ambientes los cultivadores siembran diversas variedades/especies de palma, en diferentes fechas y épocas del año; teniendo cultivos poco homogéneos estos factores (variedad de la palma y edad o año de siembra, clima, calidad de suelo, fertilización) pueden afectar las características físicas, la naturaleza de algunos compuestos fenólicos de los racimos cosechados, de esa misma manera influyen en el crecimiento y el comportamiento de las florescencias; razón por la cual, se hace necesario hacer una clasificación por lotes con similitudes.

La clasificación agrupa un área determinada que va desde las 10 hasta las 300 hectáreas con características similares, principalmente: misma especie, misma variedad de siembra, edad de siembra, producción por hectárea, pluviometría en el lugar de siembra, tipo de suelo, fertilización y tiempos de cosecha.

ETAPA 2: Selección de muestra de palmas para captación de volátiles

Cada hectárea de cultivo contiene en promedio 140 palmas para el material guineensis y hasta 180 palmas en híbrido. Con la finalidad de tener un muestreo aleatorio y representativo, se debe asegurar que la muestra seleccionada se comporte como una distribución normal, con el fin de garantizar que el comportamiento del 95 % de las muestras tomadas están dentro de las 2 desviaciones estándar a partir de la media.

Según el teorema del límite central si el tamaño de la muestra es suficientemente grande, es decir la muestra es mayor o igual a 30 individuos se puede asegurar una distribución normal.

30 Palmas en un cultivo de 30 hectáreas representa el 0,72 % del total de palmas, por este motivo para mantener dicha proporción para cultivos o lotes con 31 hectáreas o más se debe muestrear el 0,72% de las palmas totales por lotes mayores a 30 hectáreas. Generalmente los cultivos están divididos en líneas, cada línea y cada palma se representan por una letra o un número. Utilizando un sistema de sorteo aleatorio se selecciona la muestra, cada palma seleccionada debe estar en época de inflorescencia.

De cada palma seleccionada por hectárea, debe cortarse al menos 8 inflorescencias femeninas, de manera que sea posible caracterizar los diferentes criterios o momentos de antesis:

- El criterio 1 o *racimo con inflorescencias buenas (FB)* son aquellos que cuentan con más del 80 % de las flores completamente abiertas y separadas de las espigas, en términos prácticos el operario debería polinizar todo el material cuando el racimo está en este estado.

- El criterio 2 o *racimo con inflorescencias doblemente polinizadas (FDP)*, son racimos donde solo el 30 % de los botones se encuentran abiertos y extendidos, el resto de las flores que componen el racimo se encuentran ubicadas por debajo de las espigas esperando a entrar a su periodo de antesis.
- Por último, el criterio 3 o *inflorescencia ayudada*, son aquellos racimos que se encuentran finalizando su período de antesis, las muestras recolectadas deben ser almacenadas en frascos herméticos y sellados.

ETAPA 3: Microextracción en fase sólida de compuestos orgánicos volátiles.
La microextracción en fase sólida o SPME, por sus siglas en inglés, se basa en la extracción de los analitos de la matriz de una muestra mediante una fibra de sílice fundida que está recubierta de un sorbente, en la mayoría de los casos polimérico.

Posteriormente, se lleva a cabo la desorción de los analitos mediante el aumento de la temperatura o el uso de disolventes orgánicos.

El pequeño tamaño de la fibra y su geometría cilíndrica permiten incorporarla en una jeringa. De esta forma, se facilita su manipulación en pruebas de campo y al mismo tiempo, se protege la fibra cuando no se utiliza, ya que ésta permanece dentro de la aguja de la jeringa. Dichas jeringas son llevadas al lugar donde se encuentren las flores de la muestra seleccionada en la etapa anterior.

Para cada extracción de analitos, las espigas que sostienen las inflorescencias que cumplen con las características citadas para el criterio 1, 2 y 3 deben calentarse a una temperatura entre los 70 y 100 °C por 20 minutos. Pasado este

tiempo, la fibra de SPME es expuesta a un espacio de cabeza libre de interacción con las muestras, lo cual permite que los compuestos volátiles se absorben en la sílice de la fibra después de unos 15 minutos y se concentren para una posterior técnica analítica o cromatográfica.

ETAPA 4: Caracterización de COVs gases orgánicos volátiles.

Las diferentes fibras utilizadas para la captura de los volátiles se analizan utilizando principalmente una técnica de cromatografía de gases acoplada con una espectrometría de masas, esto con el fin de caracterizar los COVS; es decir, separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semi-volátiles.

La caracterización permite conocer qué tipo de gases están presentes o ausentes en cada uno de los criterios posibles de antesis, de igual forma se identifica la concentración de cada compuesto que puede variar dependiendo del periodo fértil de las flores, es decir, se pretende identificar cada criterio a través de la presencia y concentración de gases orgánicos.

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas complejas. Una vez separados, detectados y cuantificados los componentes individuales de una muestra, se tiene como resultado el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos o cromatograma. Sin embargo, estos datos no son suficientes para una identificación inequívoca, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía de gases capilar, por tanto, se utiliza la espectrometría de masas como un análisis complementario que aumenta la confiabilidad de los resultados de la caracterización.

La espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, de tal modo que la técnica no identifica componentes individuales de una mezcla, es necesario separar previamente sus componentes. Si se analiza una mezcla con espectrometría, la superposición de los espectros particulares de cada componente hace incomprensible el espectro resultante.

La combinación de altas resoluciones, sensibilidad y tiempos de análisis cortos del acople de las dos técnicas han convertido en la rutina más usada los laboratorios químicos, estas características compaginan de forma perfecta con la exactitud y practicidad de la captación de volátiles con fibras SPME.

ETAPA 5. Calibración de sensores de concentración de COVs y polinización efectiva:

Al identificar la concentración de compuestos volátiles influyentes, preferiblemente estragol y salicilato de metilo,, con mayor concentración en los distintos criterios de antesis se implantan sensores de concentración de dichos volátiles en cada una de las palmas que abarca el cultivo o lote, los sensores envían señales de alerta a un sistema de monitoreo remoto cuando alguna de las palmas cumple con las características que identifican al criterio 1, en este momento, el operario encargado de la polinización visitará el racimo para fecundarlo. Adicionalmente, cada sensor estará referenciado espacialmente, lo que permite que el sistema calcule la mejor ruta para visitar a las palmas que estén en el momento óptimo para ser polinizadas.

La originalidad del proceso radica en realizar una polinización asistida de flores femeninas y/o masculinas en cultivos de palmas *Elaeis guineensis, Elaeis oleifera* o en sus híbridos OXG (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) en el *periodo óptimo de antesis;* es decir, lograr que la labor de polinización

asistida se realice en el momento en que más del 80 % de las flores están completamente abiertas y separadas de las espigas (Criterio 1).

La invención se destaca por lograr caracterizar en 4 etapas los compuestos orgánicos volátiles (COVs) presentes en los diferentes momentos o estados de antesis, teniendo en cuenta variables críticas como la edad, variedad de suelo, condiciones climatológicas, la especie y la variedad de la palma a partir de metodologías que se asemejan a los procesos realizados normalmente en los cultivos de palma que se manejan de forma eficiente sin dejar de lado el carácter estadístico que permite asegurar que los muestreos representan una población total. Posteriormente, esta caracterización permitirá ubicar y programar sensores de gases que indiquen el momento óptimo de antesis para polinizar todo el material en la palma.

Las características técnicas novedosas de la invención para las cuales se espera reclamar la protección se centran en la secuencia e iteración de las 5 etapas:

ETAPA 1: Clasificación por lotes. Agrupar un área entre 10 y 300 hectáreas con características similares, principalmente: misma especie, misma variedad de siembra, edad de siembra, producción por hectárea, pluviometría en el lugar de siembra y tipo de suelo. 2 de cada 10 cultivos pertenecientes a plantas extractoras cuentan con agrupaciones por lotes con características similares lo que favorece la adaptabilidad de la tecnología en cultivos pequeños o con grandes extensiones de tierra.

ETAPA 2: Selección de la muestra de palmas. Seleccionar aleatoriamente 30 palmas para cultivos de 10 a 30 hectáreas o el 0,72 % del total de palmas sembradas para cultivos con áreas iguales o mayores a 31 hectáreas,

para cada palma tomar 8 muestras de flores femeninas, con el fin de caracterizar los diferentes momentos de antesis. La toma de muestras de forma aleatoria permite asegurar un muestreo compuesto por plantas con características similares, pero en condiciones de desarrollo diferentes lo que conlleva a obtener muestras realmente representativas hablando en términos estadísticos.

ETAPA 3: Microextracción en fase sólida de compuestos orgánicos volátiles. Extraer los analitos de la matriz de una muestra mediante una fibra de sílice y posteriormente, realizar la desorción de los analitos mediante el aumento de la temperatura de 70° a 100 °C por 20 minutos o el uso de disolventes orgánicos. El uso de estos filamentos permite obtener muestras de compuestos volátiles con concentraciones por debajo del 1 ppb.

ETAPA 4: Caracterización de COVs gases orgánicos volátiles. Analizar las fibras utilizadas para la captura de los volátiles utilizando la técnica de cromatografía de gases acoplada con una espectrometría de masas, esto con el fin de caracterizar los COVS; es decir, separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semi-volátiles.

ETAPA 5: Calibración de sensores de concentración de COVs y polinización efectiva. Implantar sensores de concentración de volátiles en cada una de las palmas que abarca el cultivo o lote, los sensores envían señales de alerta a un sistema de monitoreo remoto cuando alguna de las palmas cumple con las características que identifican al criterio 1, en este momento, el operario encargado de la polinización visitará el racimo para fecundarlo. Adicionalmente, cada sensor estará referenciado espacialmente, lo que permite que el sistema calcule la mejor ruta para visitar a las palmas que estén en el momento óptimo para ser polinizadas. Hasta el momento la incursión de

instrumentación o tecnología en los cultivos de palma es bajo, toda labor se realiza de forma manual y subjetiva, eliminar la subjetividad del trabajo no solo favorece la disminución de costos relacionados con errores de operación sino también disminuye la necesidad de personal calificado, generalmente los polinizadores necesitan conocimientos agronómicos por lo cual en su selección se observan perfiles asociados a técnicos o tecnólogos ,la tecnología permite que cualquier persona polinice un racimo de palma.