

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE  
HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**RESISTENCIA FENOTÍPICA DE 30 ACCESIONES DE TUNA (*Opuntia sp.*) A  
LA CERCOSPORIOSIS (*Cercosporasp.*) HUANTA A 2628 msnm,  
AYACUCHO.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERA AGRONOMA**

Presentado por:

**GABRIELA FLORES PAQUIYAURI**

**AYACUCHO - PERÚ**


**2015**

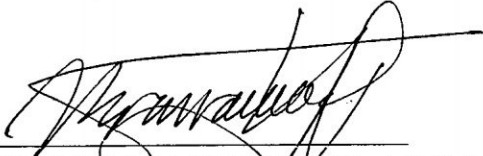
Tesis  
Ag 1128  
Flo  
E.L

"RESISTENCIA FENOTÍPICA DE 30 ACCESIONES DE TUNA (*Opuntia sp*) A LA CERCOSPORIOSIS (*Cercosporasp.*) EN HUANTA A 2628 msnm - AYACUCHO. "


Recomendado : 31 de marzo de 2015

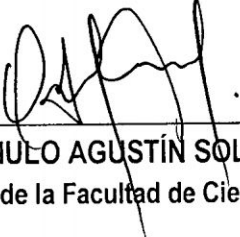
Aprobado : 24 de abril de 2014

  
Mg.Sc. JOSE ANTONIO QUISPE TENORIO  
Presidente de Jurado

  
Mg.Sc. FERNANDO BARRANTES DEL AGUILA  
Miembro de Jurado

  
Mg.Sc. GERMAN DE LA CRUZ LAPA  
Miembro de Jurado

  
Ing. EFIGENIO QUISPE CURI  
Miembro de Jurado

  
Dr. ROMULO AGUSTÍN SOLANO RAMOS  
Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias

## DEDICATORIA

*Por su interminable paciencia y amor, por sus enseñanzas y consejos, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino culminaba, dedico este trabajo a mis padres.*

*A mi hermana Carla, y mi sobrina Mayra, que siempre me ha brindado su apoyo en los momentos difíciles y me han sacado una sonrisa.*

*A tu paciencia y comprensión, preferiste sacrificar tu tiempo, para que yo pudiera cumplir con el mío. D.*

*Pero, sobretodo a Dios.*

“El silencio, también es una respuesta.” (Paulo Coelho)

## **AGRADECIMIENTO**

Un sincero agradecimiento a Dios, por permitir y ayudarme en mi camino profesional.

A nuestra primera casa superior de estudios, Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Formación Profesional de Agronomía, la cual ha sido participe de mi formación profesional y personal.

A todos los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Agronomía por haber impartido sus conocimientos, los cuales han sido de vital importancia para mi formación y culminación del trabajo. En especial a los M. Sc. German De La Cruz Lapa y M.Sc. Fernando Barrantes Del Águila, por su asesoramiento, aporte y colaboración en el desarrollo de la investigación.

A mis amigos y a todas aquellas personas por su apoyo desinteresado para la culminación del presente trabajo.

## INDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>Pág.</b>
<b>CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>03</b>
1.1. Clasificación taxonómica	03
1.2. Origen y Distribución del Género <i>Opuntia Sp.</i>	04
1.3. Tipos y características de <i>Opuntia spp</i>	05
1.4. Descripción botánica del género <i>Opuntia</i>	05
1.5. Genética de la tuna	06
1.5.1. Variabilidad de <i>Opuntia sp.</i>	07
1.6. Aspectos fitogenéticos y germoplasma	10
1.6.1. Germoplasma	10
1.6.2. Banco de germoplasma	11
1.6.3. Colección y conservación	12
1.6.4. Caracterización y evaluación	13
1.7. Medios nutritivos de laboratorio	14
1.8. Bases fisiológicas de la patogénesis vegetal	14
1.9. Proceso de infección	16
1.10. El patosistema del cultivo	17
1.11. Aspectos epifitológicos de las enfermedades	19
1.12. La cercosporiosis de la tuna	20
1.12.1. Características generales del género <i>Cercospora</i>	20
1.12.2. Síntomatología de la cercosporiosis	21
1.12.3. Ciclo de la <i>Cercospora</i> sobre la penca	22
1.13. Antecedentes de investigación	23

<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>24</b>
2.1. Lugar del Experimento	24
2.2. Condiciones climáticas	25
2.3. Recursos, procesos y procedimientos establecidos	27
2.3.1. Recursos de investigación	27
2.3.2. Evaluación de Germoplasma de Tuna para resistencia/susceptibilidad	29
2.3.3. Caracterización morfológica de accesiones de tuna	35
2.3.4. Aislamiento del patógeno	35
2.4. Parámetros evaluados	40
2.4.1. Resistencia de campo	40
2.4.2. Susceptibilidad de Campo	40
2.4.3. Caracterización morfológica	41
2.4.4. Calidad del medio para crecimiento y esporulación	41
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	<b>42</b>
3.1. Evaluación de resistencia y susceptibilidad a <i>Cercospora sp.</i> , causante de cercosporiosis en 30 accesiones de tuna.	42
3.1.1. Evaluación de la sintomatología de campo desarrollada en las accesiones de tuna en estudio.	42
3.1.2. Determinación del Índice de Severidad de cercosporiosis y análisis de la susceptibilidad y resistencia.	50
3.2. Caracterización morfológica de cladodio y planta entera de 30 accesiones de tuna.	73
3.2.1. Análisis de agrupamiento.	73
3.3. Aislamiento del patógeno de la cercosporiosis.	79

3.3.1. Prueba de medios de cultivo.	79
3.3.2. Diagnóstico del patógeno y características estructurales	
Del micelio.	81
<b>CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>85</b>
4.1. Conclusiones	85
4.2. Recomendaciones	86
<b>RESUMEN</b>	
<b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 2.1.</b> Datos hidrometeorológicos de la Estación Meteorológica de Huanta.	26
<b>Gráfico 2.2.</b> Croquis de distribución de las accesiones de tuna alrededor de la fuente de inóculo de esporas de <i>Cercospora sp.</i> en el anexo San Luis, Huanta.	29
<b>Gráfico 3.1.</b> Fase I de la cercosporiosis, (San Luis-Huanta). A y B lesiones redondas, ligeramente cloróticas y translúcidas, pequeñas de 6 mm, registradas a un mes de la plantación en las accesiones P4 y P1. C y D lesiones ligeramente redondeadas y cloróticas, de mayor tamaño (1.5 mm) registradas en la 13ava fecha de evaluación en las accesiones P5 y P29.	45
<b>Gráfico 3.2.</b> Fase II de la cercosporiosis. B y C de accesiones P5 y P29 (San Luis-Huanta); se mantiene como lesión abultada de color marrón oscuro con exudación en parte central. A, de la accesión P22, lesión abultada, de color marrón rodeada de halo verde mostaza, sin exudación.	46
<b>Gráfico 3.3.</b> Fase III de la cercosporiosis (San Luis-Huanta). (A, B, C y D); lesiones hundidas de color marrón oscuro, rodeadas de un halo crema, con ligera exudación.	47

<b>Gráfico 3.4.</b> Fases IV y V de la cercosporiosis (San Luis – Huanta).	
Las lesiones son hundidas de color ocre, rodeadas de un halo crema, y con una pequeña área en el centro de color negro (estromas de conidióforos que se encuentran en formación).	48
<b>Gráfico 3.5.</b> Fase VI de la cercosporiosis (San Luis-Huanta).	
Lesiones compactas de color negro, halo de color crema compacto. (A) y (B) lesiones de la accesión P29, que evolucionaron de las fases 4 y 5 (aún se observa un halo de color marrón oscuro rodeado por un anillo clorótico). En C, se observa varias lesiones maduras de la misma temporada.	49
<b>Gráfico 3.6.</b> Porcentajes de severidad final en 30 accesiones de tuna obtenidos en 16 fechas de evaluación.	64
<b>Gráfico 3.7.</b> Tendencia promedio de la evolución de la Cercosporiosis en accesiones de tuna en San Luis, Huanta, durante 16 fechas de evaluación.	67
<b>Gráfico 3.8.</b> Tendencias de evolución de la cercosporiosis en cuatro accesiones seleccionadas por su susceptibilidad, alta tolerancia o resistencia.	69
<b>Gráfico 3.9.</b> Representación de la distribución de frecuencia de accesiones de tuna según la severidad de infección en clados por <i>Cercospora</i> a los 10 meses de evaluación.	72

<b>Gráfico 3.10.</b> Dendograma de 30 accesiones de tuna sobre la base de 28 caracteres de cladodio y planta.	78
<b>Gráfico 3.11.</b> Crecimiento de colonias de <i>Didymosphaeria sp.</i> en cuatro medios de cultivo (PDA, PAT-E, ATjS y ATj-ME).	82
<b>Gráfico 3.12.</b> Crecimiento de colonias de <i>Didymosphaeria sp</i> en cuatro medios de cultivo (ATvS-E, ATv, Agar-V8 y Agar-V8-E).	83
<b>Gráfico 3.13.</b> (Fotografía 1) Seudotecios errumpentes ostiolados, aislados y oscuros en la epidermis de penca afectada por <i>Didymosphaeria sp.</i> (Fotografía 2) Seudotecio (ascostroma) unilocular, redondeado de color oscuro, de <i>Didymosphaeria sp.</i> mostrando numerosas ascas (por F. Barrantes, 2014).	84
<b>Gráfico 3.14.</b> (Fotografía 1 y 2) Seudotecio y ascas maduras (izquierda) y pseudo parafisis trabeculadas que se forman sobre las ascas dentro del seudotecio. (Derecha).	85
<b>Gráfico 3.15.</b> Promedio del Porcentaje de severidad de las 30 accesiones de tuna en las 16 fechas de evaluación.	85

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.1.</b> Clasificación taxonómica de la tuna.	04
<b>Cuadro 2.1.</b> Temperatura (máxima, mínima y media); Precipitación y Balance hídrico promedio mensual de Octubre de 2013 – Setiembre de 2014, Estación Meteorológica de Huanta a2722 msnm – Ayacucho.	25
<b>Cuadro 2.2.</b> Escala de severidad de la Cercosporiosis.	35
<b>Cuadro 3.1.</b> Evaluaciones quincenales de severidad de infección promedio en 30 accesiones de tuna ( <i>Opuntia ficus-indica</i> Mill).	51
<b>Cuadro 3.2.</b> Análisis de variancia de los valores del factorial 30A x 16F de las Accesiones y Fechas de evaluación.	54
<b>Cuadro 3.3.</b> Porcentaje de severidad de Cercosporiosis en 30 accesiones de tuna, bajo la prueba de Tukey (0.05).	56
<b>Cuadro 3.4.</b> Respuesta epifitiológica de las accesiones a las infecciones naturales por <i>Cercospora sp.</i>	57
<b>Cuadro 3.5.</b> Distribución de la frecuencia de 30 accesiones de tuna, por grados de severidad de cercosporiosis en pencas.	70
<b>Cuadro 3.6.</b> Cálculo de la distribución de frecuencia de accesiones según sus grados de infección por <i>Cercospora sp.</i> , en pencas.	71
<b>Cuadro 3.7.</b> Matriz básica de 28 caracteres de cladodio y planta de 30 accesiones de tuna.	77

## INTRODUCCIÓN

La tuna (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) es uno de los recursos vegetales más representativo de las regiones áridas de Ayacucho, que durante muchas generaciones ha sido utilizado por los habitantes de las provincias de Lucanas, Fajardo, Cangallo, Huamanga y Huanta en forma silvestre.

La diversidad y variabilidad climática y de ambientes en nuestra región ha permitido el establecimiento de muchos cultivares de tuna, que particularmente son endémicos de cada una de las áreas de crecimiento. Los valles interandinos albergan una significativa presencia de variedades de tuna, que representan un potencial vegetal importante para la alimentación humana, animales domésticos y en la elaboración de productos industriales y medicinales.

Durante su crecimiento y producción, las variedades de tuna son afectadas principalmente por una enfermedad endémica de Ayacucho, Apurímac y Huancavelica: la cercosporiosis. Esta enfermedad está muy difundida en las zonas ecológicas donde prosperan los tunales silvestres o cultivados; ocasiona reducciones importantes en la producción de fruta y cochinilla y constituye un serio problema para el establecimiento del cultivo comercial o familiar. Trabajos iniciales de investigación han revelado un comportamiento muy diversificado del patógeno en cada uno de los lugares donde existe la tuna, de modo que la cercosporiosis se expresa muy variable, a veces moderada y a veces muy agresiva; pero normalmente está presente y casi nunca deja de tener presencia. Las diferentes respuesta ante la cercosporiosis tiene como sustento la presencia de variabilidad de cultivares de tuna, que aún no ha sido estudiada de manera sistemática.

Casi la totalidad de investigaciones en esta enfermedad endémica de Ayacucho, ha sido estudiada y evaluada en forma permanente por la Universidad de Huamanga, registrándose amplia información que permite caracterizar biológicamente a la cercosporiosis y al agente causal. También se tiene evidencia de la alta relación epifitiológica entre la variabilidad de cultivares de tuna y la limitación de epifitias, puesto que la cercosporiosis es principalmente una enfermedad endémica.

La investigación planteó continuar la evaluación del germoplasma regional de tuna por su resistencia o susceptibilidad ante la cercosporiosis, utilizándose un grupo de 30 accesiones (*Opuntia ficus-indica* y *O. robusta*) de la Universidad de Huamanga para someterlo a infecciones naturales en condiciones de campo en el anexo de San Luis en Huanta y evaluar la severidad de infección en las pencas. Se incluyó la caracterización morfológica del cladodio y de la planta en la zona de Pucaqasa donde se estableció el banco de germoplasma. De igual modo, se efectuó una prueba de medios nutritivos para el aislamiento del hongo *Cercospora* sp. de las lesiones obtenidas de las pencas.

Los objetivos de la investigación fueron los siguientes:

- ✓ Establecer una base fenotípica de resistencia o susceptibilidad de 30 accesiones del germoplasma de tuna de la UNSCH a *Cercospora* sp., en condiciones de infección natural en la provincia de Huanta.
- ✓ Determinar las características morfológicas del cladodio y la planta de 30 accesiones del germoplasma de tuna.
- ✓ Aislar al patógeno *Cercospora* sp. de las lesiones en pencas, mediante cultivo en medios nutritivos.

## **CAPÍTULO I**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

Según BRAVO-HOLLIS y SHEINVAR (1995), el término *Opuntia* fue designado por Linné, probablemente hace referencia a una región de Grecia llamado Locris opuntia (capital Opus), donde crecían diversas plantas muy espinosas. "El origen del nombre se remonta a Plinio, quien llamó *Opuntia* a una planta que crecía cerca de Opus, India, y que Mathiolus, en 1565, creyendo que se trataba de un nopal aplicó por primera vez el término *Opuntia* a estas cactáceas

El nopal pertenece a la familia de las cactáceas. Su taxonomía es muy compleja por un número de razones. Por ejemplo, sus fenotipos muestran alta variabilidad de acuerdo con el medio ambiente que prevalecen, la poliploidía es común, se reproduce ya sea sexual o asexualmente y hay varios híbridos interespecíficos.

El nombre científico de *Opuntia* fue acuñado por Tournefort en 1700, en vista de su parecido a las plantas espinosas que crecen en la ciudad de Opus en Grecia.

### **CUADRO 1.1. Clasificación taxonómica**

<b>Reino</b>	: Vegetal
<b>División</b>	: Angiospermae
<b>Clase</b>	: Dicotyledonae
<b>Orden</b>	: Opuntiales
<b>Familia</b>	: Cactaceae
<b>Subfamilia</b>	: Opuntioideae
<b>Tribu</b>	: Opuntiae
<b>Género</b>	: Opuntia

**Fuente:** Britton y Rose, 1963 citados por Bravo-Hollis et al, 1991.

### **1.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO *Opuntia*.**

SCOTT, citado por MACNEISH (1991), indica que *Opuntia ficus-indica* Mill., es nativa de Mesoamérica. Actualmente existe en forma silvestre o cultivada en toda la cuenca del Mediterráneo (Francia, Grecia, Italia, Portugal, entre otros) En África, se difunde por Argelia, Egipto, Eritrea.

FLORES et al. (1995) y GARCÍA (2003) informan que la distribución de *Opuntia* es aún mayor en América; se encuentra de manera natural en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Venezuela y Perú, además de los países de América Central y México. GRIFFITH (2004) y BRAVO-HOLLIS et al. (1991) consideran que la amplia dispersión se debe a que *Opuntia ficus-indica* Mill. acompañó a Cristóbal Colón en su primer regreso a Europa en 1493; esta planta adquirió mayor importancia para los marinos debido a sus propiedades antiescorbúticas.

### **1.3 TIPOS Y CARACTERÍSTICAS DE *Opuntia spp.***

UZUN (1996) informa que se conocen cerca de 300 especies del género *Opuntia*, pero sólo de 10 a 12 especies han sido utilizados por sus frutas, hojas tiernas (cladodios), forraje o cochinilla para la producción de colorante. Las especies más cultivadas para la producción de frutas son *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia amyclaea*, *Opuntia xoconostle*, *Opuntia megacantha* y *Opuntia streptacantha*. Las especies silvestres incluyen *Opuntia hyptiacantha*, *Opuntia leuxotrichay* y *Opuntia robusta*. Las características de estas especies de *Opuntia* varían en la forma de los cladodios, la presencia o ausencia de espinas, el tamaño y el color de la fruta y otras características botánicas.

### **1.4 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL GÉNERO *OPUNTIA***

CHESSA et al. (2010) plantea que el conocimiento de la diversidad genética es una herramienta útil en la gestión de bancos genéticos, identificación y/o eliminación de duplicados, clasificar a los grupos en base de sus usos actuales y potenciales, identificar las accesiones con características agronómicas deseadas para una evaluación más precisa, identificar las interrelaciones entre los grupos geográficos de los cultivares y estimar la magnitud de las variaciones en la colección.

CHESSA y NIEDDU (1997), CHESSA et al.(2010) y MONDRAGÓN y CHESSA (2010) indican que existe una amplia lista de descriptores estándar aceptados que se utilizan para optimizar las características de las colecciones y accesiones de cactus, que ha sido publicadas en Food and Agriculture Organization of the United Nations; International Center for Agricultural Research in the Dry Areas y International Technical Cooperation Network on Cactus.

BOX(2005) informa que en el nopal (*Opuntia ficus-indica*Mill) sus ramas están construidas por articulaciones carnosas y suculentas (palas o pencas), de forma ovoidal y color verde glauco, que realmente son tallos fotosintéticos altamente modificados y adaptados para esta actividad. Estas articulaciones son verdaderas ramas y con el tiempo se hacen leñosas y forman un tronco casi cilíndrico.

GUILLOT (2008) indica que las cactáceas tienen un tallo arbóreo, de 3 a 5m. de alto o más. Tronco leñoso bien definido de 60 cm a 1.50 m de altura y de 20 a 30 cm de diámetro. Cladodios oblongos hasta largamente abovados, de 30 a 60 cm de largo y 20 a 40 cm de ancho y 1.9 a 2.8 cm de grueso, color verde opaco; integran ramas de varios artículos que forma una copa muy racimosa. Aréolas distantes separadas entre sí como 2 a 5 cm, pequeñas, angostamente elípticas, de 2 a 4.5 mm de largo, 3 mm de ancho. Espinas casi siempre ausentes, cuando existen son escasa y pequeñas; glóquidas más o menos numerosas, amarillas, caducas.

### **1.5 GENETICA DE LA TUNA**

PINKAVA (2002) informa que la mayor parte de las Opuntioideae (64.3%) son poliploides. Una de las causas de la variación es el frecuente flujo genético natural entre las diferentes especies de *Opuntia*, ya que en las poblaciones silvestre y cultivadas es común la coincidencia de periodo de floración, además de que algunas formas de nopal tunero comparten visitantes y polinizadores florales. Se considera que el proceso evolutivo que posiblemente han seguido las formas de nopal para diferenciarse, involucra la hibridación entre especies distintas seguidas por la poliploidía.

PIMIEN (1992) indica que los nopales con los niveles más altos de poliploidía (6x y 8x) tienen mayor dispersión geográfica que los diploides (2x); de hecho la mayoría de las variedades de tuna que se han dispersado en Europa, Sudamérica, África, Oriente y Australia corresponden a la especie *Opuntia ficus-indica* Mill., que en la mayoría de sus formas y variedades son octaploides.

PINKAVA et al. (1985) indica que en la familia de las Cactáceas, el número cromosómico básico es  $x=11$ . Una observación más detallada de los recuentos se observa que solo en el grupo de especies de *Opuntia* de las series *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*, existen octaploides. Específicamente para *O. ficus-indica*, numerosos recuentos cromosómicos muestran que tanto la forma inermis como la espinosa tienen  $2n=88$ , o sea que ambas son octaploides.

#### **1.5.1. Variabilidad de *Opuntia*.**

LEÓN (2000) refiere que la variabilidad de plantas cultivadas es el resultado de las mismas fuerzas que operan sobre las poblaciones silvestres, pero afectadas por la acción del hombre. La más importante es la mutación, porque es la única fuente de formas nuevas; de menor importancia es la poliploidía, de acción restringida a ciertas especies; un tercer factor, la recombinación, que resulta de la hibridación entre especies o cultivares que produce formas diferentes. El aislamiento debido a la migración que contribuye en mucho menor grado a incrementar las diferencias entre poblaciones. La selección y el conjunto de factores que determina el valor adaptativo de una mutación o recombinación a su ambiente es la que finalmente decide el grado de supervivencia.

MONDRAGON (2001) reporta que la hibridación natural en las *Opuntias* es común, y está relacionada con la poliploidia y parece ser una de las mayores causas de la variabilidad. La reproducción asexual es una respuesta a las bajas tasas de germinación y la alta pérdida de semillas y plántulas durante la etapa de germinación. También señala que la autopolinización fue confirmada por WANG (1997), en un ensayo de hibridación que incluyó seis especies de *Opuntia*. El éxito de la autopolinización es también probado en los huertos comerciales, en los cuales es común tener grandes extensiones de un solo cultivar sin la necesidad de contar con un cultivar polinizador. Se asume que los cultivares comerciales son el resultado de polinización cruzada y todos los cultivares mexicanos son reportados como producto de la hibridación de *Opuntia ficus-indica* Mill., con diferentes formas de nopales silvestres.

GONZALES (2001) proporciona las siguientes descripciones de especies de subgénero *Opuntia* y *Nopalea*.

✓ **Sub género *Opuntia*: *Opuntia ficus-indica* Mill.**

Planta arbórea de 3 a 5 m de alto o más, tronco leñoso bien definido, corteza no escamosa, artículos aplanados, oblongo hasta largamente abovados, de hasta 60 cm de largo y 30 cm de ancho, verde oscuro, epidermis opaca, glabra. Areolas pequeñas, en series de 7 a 9, distantes entre sí como de 2 a 5 cm con fieltro marrón claro; gloquídeas más o menos numerosas, amarillas, caducas. Espinas ausentes, cuando existen son escasas y pequeñas, de 1 a 2, aciculares, blancas a grisáceas. Flores de 6 a 8 cm de diámetro en la antesis como de 6 a 10 cm de largo, amarillas a anaranjadas, segmentos externos abovados a ovados con el ápice agudo o truncado, mucronados a emarginados, amarillos a anaranjados con

el centro de la base verde rojiza o verde; los segmentos interiores abovados angostos, con el ápice truncado u obtuso, mucronado o emarginado, con el borde entero o denticulado, de amarillos a anaranjados; pericarpelo con algunas espinas pequeñas, caducas. Frutos ovoides a obperiformes, de 5 a 10 cm de largo y de 4 a 8 cm de diámetro, verde claro a anaranjados, algunos umbilicados, con abundante pulpa carnososa.

✓ **Sub género Opuntia: *Opuntia robusta* Wendland.**

Planta arbustiva de 1 a 1.5 m de alto, tronco bien definido, ramificado desde la base, artículos aplanados, circulares o algo oblongos hasta abovados de 15 a 40 cm de largo o más y 28 cm de ancho, muy gruesos hasta 2.5 cm de espesor, verde claro azulado, glaucos, sin manchas rojo púrpura bajo la areola; epidermis glabra y cerosa; hojas cortas cónicas. Areolas ovadas, ligeramente hundidas, de 7 a 8 series, distantes de 4 a 5.5 cm variables en tamaño; con un margen de fieltro pardo en el centro; glóquidas amarillentas a pardas, setosas, delgadas de 1 a 18 mm de largo. Espinas subuladas aplanadas en la base, divergentes de tamaño variable hasta 5 cm de largo en número de 1 a 6, generalmente ausentes en la variedad Larreyi. Flores de 5 a 7 cm de largo y 8 cm de diámetro en la antesis, amarillo intenso; segmentos externo romboidales emarginados o mucronados, amarillo intenso, pericarpelo con tubérculos gruesos y escasos glóquidas, en estas plantas es frecuente encontrar flores unisexuales y hermafroditas, frutos anchos, subglobosos globosos o elípticos rojos; areolas del pericarpelo escasa, con fieltro de color marrón claro; glóquidas de 3 mm de largo, amarillas, pulpa roja y semillas grande.

✓ **Sub género Opuntia: *Opuntia megacantha* Salm – Dyck.**

Planta arbórea de 2 a 4 m de alto o más, tronco con espinas numerosas y cortas. Artículos aplanados, obovados hasta oblongos, oblicuos, de 30 a 45 cm de largo o más y de 22 a 27 cm de ancho, verde claro a glauco, epidermis cerosa, opaca, hojas pequeñas, de 3 mm de largo, verde o púrpuras. Areolas pequeñas, en series de 8 a 10, distanciados entre sí de 3 a 5 cm rodeadas de un margen de fieltro blanco grisáceo y en el centro fieltro castaño claro; glóquidas escasa, de 2 mm de largo, amarillo pálido, caducas; en algunas ocasiones presentes en artículos viejos; de 1 a 2 pelos setosos blancos en la base de la areola. Espinas subuladas, aplanadas, ligeramente extendidas, divergentes a veces ligeramente porrectas, no adpresas, de 1 a 3 cm, de largo, escasas, en número de 1 a 7, blancas con puntas translúcidas, presentes en las areolas superiores. Flores de 7 cm de largo y 6 cm de diámetro en la antesis, amarillas a anaranjadas; segmentos externos romboidales a espatulados, mucronados, anaranjado con una franja media rojiza, pericarpelo con podarios prominentes con o sin espinas. Frutos globoso a periformes, de 6 cm de largo y 3.5 cm de ancho, rosa intenso, areolas del pericarpelo con abundantes glóquidas amarillas, pulpa verde claro de sabor dulce.

## **1.6 ASPECTOS FITOGENÉTICOS Y GERMOPLASMA**

### **1.6.1. Germoplasma**

PAINTING et al. (1993) considera que germoplasma es el material que realmente se mantiene ya sean semillas, cultivo de tejido o plantas en crecimiento activo. Se llama germoplasma al material genético responsable de las características de una planta, que se transmite de generación a otra.

QUEROL (1998) señala que la palabra germoplasma desde un punto de vista etimológico tiene dos raíces: germe del latín *germe*, que significa principio rudimental de un nuevo ser orgánico y plasma del griego *plasma*, que se define como la formación en sentido amplio de la materia no definida por lo tanto el germoplasma es la materia donde se encuentra un principio, que puede crecer y desarrollarse, mientras de los recursos genéticos se entiende a la variabilidad genética almacenada en los cromosomas y en otras estructuras conteniendo ácido desoxirribonucleico ADN, moléculas que conforman a los genes de tal manera que es un bien por su importancia de su valor económico.

#### **1.6.2. Banco de Germoplasma**

PULDÓN(2006) menciona que los bancos de germoplasma poseen colecciones de material vegetal con el objetivo de preservar sus características para el futuro beneficio de la humanidad y del ambiente. Los Bancos de Germoplasma son llamados también "Centros de Recursos Genéticos", pues se le da gran importancia al hecho de que las plantas son fuente de características genéticas, fuente de diversidad.

PAINTING (1993), afirma que el Banco de Germoplasma es el centro de recursos genéticos donde se conserva germoplasma en una o más colecciones. Así como bibliotecas son centro donde se recurre para obtener información, los bancos de germoplasma de plantas poseen colecciones de material vegetal con objetivos de mantenerlas vivas y preservar sus características para el futuro beneficio de la humanidad y del ambiente.

### 1.6.3. Colección y conservación

QUEROL (1998) informa que las colectas de recursos genéticos a diferencia de las colectas botánicas, busca la máxima variabilidad y el material para propagarla, el colector debe de obtener esa variación y debe seguir un plan organizado para conseguir la máxima información genética, donde la colección puede comprender de una sola especie o especies relacionadas filogenéticamente o geográficamente, que puede pretender abarcar la diversidad mundial, nacional, regional y local donde colector en épocas y lugares diferentes ha generado una lista de variables que desea tomar como datos de pasaporte que se obtiene durante la colecta incluyendo la información del lugar y otros datos más generales, nombre científico y común, el número único de accesión se le asigna en el momento de llegar al banco de germoplasma, en una ficha de colecta.

El mismo autor indica que biológicamente conservar recursos genéticos es preservarlos en el medio en el cual se desarrollan, este siempre y cuando se encuentre en equilibrio natural, el almacenamiento *in situ* es el que existe naturalmente, además hay posibilidades de conservar los recurso genéticos en colecciones, ya sea en la forma de jardines de colecta o en almacenes de semillas, plántulas, polen, células de cultivo en genes.

MONDRAGÓN (2001) señala que la colección de materiales basada en la morfología y nombres locales frecuentemente conduce a la duplicación de entradas en los bancos de germoplasma. La morfología de las *Opuntias* es influida por factores ambientales (temperatura y la humedad) el crecimiento rápido también significa que las reacciones al ambiente son rápidas y más drásticas que otras cactáceas. Características tales como presencia de espinas, tamaño de

fruto y productividad total pueden ser afectadas significativamente por el ambiente. La duplicación también dificulta la evaluación y la utilización de los recursos genéticos.

De todas la partes de las plantas durante la floración, la flor es la menos afectada por los cambios del medio ambiente, por ejemplo la fructificación estacional de la tuna es afectada por el manejo con riego, pero no ocurre lo mismo con la anatomía y morfología básica de las flores y de los frutos. Esta consistencia de las estructuras florales, hace que las flores y frutos sean de orden de clasificación las partes más importantes de las angiospermas.

#### **1.6.4. CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN**

QUEROL (1998) señala que la caracterización es la toma de datos mayormente cualitativos para la descripción de sus características y por ello diferencia accesiones de una misma especie, los principales datos a tomar son las características de: planta, hojas, flores, frutos, semillas y de las partes subterráneas. También el mismo autor afirma que la evaluación se realiza en función de los usos del cultivo de las características buscadas para mejorarlo, generalmente mejores rendimientos, simplificación de labores culturales y resistencia a pestes. Las evaluaciones de rendimiento son similares a ensayos de variedades y niveles de fertilización para la especie bajo estudio, las características ideales estarán determinadas por los agricultores, consumidores, fitopatólogos y mejoradores, los cuales plantearán la necesidad de evaluar.

## **1.7. MEDIOS NUTRITIVOS EN LABORATORIO**

DHINGRA y SINCLAIR (2003) publicaron el libro "Métodos básicos de patología vegetal" que constituye una recopilación mundial de métodos, procedimientos y técnicas para el trabajo de investigación, diagnóstico y enseñanza de las enfermedades de plantas. Es uno de los libros de gran calidad científica que facilita, en gran medida, el trabajo a nivel de laboratorio y de campo. (PRICE, 2013) Ofrece una lista extensa de medios de cultivo para microorganismos, procedimientos para el aislamiento y estudio de patógenos de plantas. Es la información de mayor ayuda para el fitopatólogo y que en nuestra investigación facilitará el aislamiento y la identificación de patógenos que se asocien a las muestras que serán evaluadas.

FRENCH (1985) ofrece una serie de procedimientos para el aislamiento y estudio de microorganismos patógenos de plantas. Indica que para el aislamiento de microorganismos que afectan plantas es necesario echar 3 gotas de ácido láctico por 250 ml de medio PDA o medio Kelmam o YCDA. Antes de efectuar la siembra de cortes de tejidos vegetales es conveniente desinfectar los trozos de tejido mediante clorox (hipoclorito de sodio) al 2% durante 30 seg. y enjuagar en agua destilada estéril por 60 seg. La seguridad de obtener el aislamiento correcto depende de la calidad de la muestra, del medio apropiado y de las condiciones de asepsia.

## **1.8. BASES FISIOLÓGICAS DE LA PATOGÉNESIS VEGETAL**

AGRIOS (1980) considera que así como el desarrollo de la enfermedad depende de la concurrencia e interacción de un hospedante susceptible, un patógeno virulento y agresivo, además de un ambiente favorable, el escape a la enfermedad

depende de la ausencia de coincidencia y de la interacción de estos tres factores, sea en forma temporal o permanente. Cuando se analiza a mayor profundidad el escape a la enfermedad, es necesario incluir el espacio donde se desarrolla esta interacción y el tiempo que dura. Plantea que también son de importancia la duración de los estados ontogénicos susceptibles de la planta y la presencia de patógenos activos, la duración de los procesos de floración y fructificación, los momentos de cosecha y de manejo poscosecha de los productos.

Indica que existen otros factores que inciden directamente sobre las características del patógeno que interfieren con su supervivencia, infectividad, multiplicación y diseminación, permitiendo a la planta escapar de la enfermedad; entre ellos están la ausencia del patógeno cuando la planta se halla en estado susceptible, el parásito está debilitado e incapaz de causar infección, crecer o multiplicarse debido a algún factor del medio ambiente, el parásito puede ser afectado por hiperparásitos durante la producción de inóculo o en el momento de la infección, el patógeno puede ser debilitado o muerto por antibióticos u otras sustancias secretadas por microorganismos antagónicos durante la producción de inóculo o durante la infección.

Según BATEMAN (1978), la enfermedad es el deterioro del estado normal del cuerpo de la planta o de cualquiera de sus componentes, que interrumpe o modifica el desenvolvimiento de las funciones vitales, como respuesta a factores ambientales o agentes infectivos específicos o a las combinaciones de estos factores. Es también la alteración perjudicial de uno o más procesos ordenados que utilizan la energía en un sistema viviente, causado por la continua irritación que genera un factor causal primario o varios factores al mismo tiempo. Indica que

debido a su naturaleza, un minucioso estudio de la etiología de la enfermedad, la susceptibilidad, la resistencia, la tolerancia y la patogenicidad, debe desarrollarse de acuerdo con la complejidad de las causas, es decir, a la totalidad de antecedentes del fenómeno. Menciona que el parasitismo es la relación o asociación entre organismos, usualmente de diferentes especies, durante la cual el parásito se beneficia del hospedante.

Según COWLING (1979) la enfermedad afecta la estructura mecánica de la planta en su totalidad y la integridad de sus partes. Considera que los diversos factores físicos o bióticos que inciden sobre la planta o el cultivo pueden ejercer fuerzas en diversas partes u órganos, ocasionando grados de deformación que alteran la integridad del vegetal, causándole daños generalmente irreversibles en la estructura y en el rendimiento. En infecciones severas, las plantas no se desarrollan bien, afectándose la estructura y debilitándola. En algunos casos, los patógenos incrementan la debilidad de tallos y ramas al impedir la síntesis de celulosa, lignina y pectina para la construcción de tejidos esclerenquimáticos, de colénquima y la pared celular.

### **1.9. PROCESO DE INFECCIÓN**

DODMAN (1979) indica que el proceso de penetración de patógenos a los tejidos de la planta, comúnmente consiste de una secuencia de eventos, cada uno de los cuales constituye un prerrequisito importante para el éxito de la penetración. La penetración implica una complejidad entre el patógeno, la planta y numerosas influencias abióticas y bióticas del medio ambiente.

El establecimiento de la interacción entre planta y patógeno comienza con la llegada del patógeno a la superficie de la planta. Los propágulos pueden llegar a la

planta por deposición aérea, por las gotas de lluvia o niebla y por vectores diversos. Una vez depositados, los propágulos tienen escasa oportunidad de redistribución sobre el follaje. La penetración depende de la iniciación del crecimiento y para que éste ocurra el propágulo debe ser capaz de obtener los nutrientes necesarios y el medio ambiente debe ser favorable. Aun cuando el porcentaje de esporas que germina es alto, tanto el tiempo para la germinación como la tasa de germinación pueden ser alterados por los nutrientes del hospedante, con implicancias significativas en el desarrollo de la enfermedad. Los estomas son lugares importantes de penetración, cuando el crecimiento es dirigido. La penetración a través del estoma es la única forma de entrada para algunos hongos, mientras que otros pueden usar el estoma como una alternativa de la penetración cuando normalmente lo hacen atravesando la cutícula.

BARRANTES (1998) informa que los tubos germinativos de *Cercospora sp.*, crecen hacia los estomas de la tuna. Debido al aumento de la frecuencia de penetración cuando las pencas están intermitentemente húmedas o secas, se ha sugerido que el hidrotropismo es el factor que controla el crecimiento del tubo germinativo bajo estas condiciones. En el caso de *Cercospora sp.*, el tubo germinativo crece hacia la abertura del estoma sin que forme ninguna estructura morfológicamente reconocible que ayude a la penetración, es decir no forma apresorio. Cuando *Cercospora sp.*, penetra por los estomas, no tiene necesidad de aplicar fuerza alguna sobre la epidermis; es decir esta necesidad se ha reducido o eliminado.

### **1.10. EL PATOSISTEMA DEL CULTIVO.**

BATEMAN (1978) considera que la inmunidad innata está determinada por la presencia de metabolitos normales en el hospedante, pero desfavorables para el crecimiento del parásito o por la parcial o completa ausencia de metabolitos en el hospedante que son necesarios para el parásito, o por la combinación de éstos. De este modo, la inmunidad no está determinada por sustancias especiales o mecanismos. En cierto sentido, existe una suerte de balance en el hospedante, entre las sustancias que inhiben y las sustancias que promueven el crecimiento de un parásito. De un parásito a otro o de una condición en el hospedante a otra, el balance puede inclinarse hacia la resistencia o hacia la susceptibilidad, o permanecer entre los dos extremos. La hipótesis del balance nutricional pretende explicar el parasitismo selectivo y/o resistencia y susceptibilidad de los hospedantes sin recurrir a las fitoalexinas, fitoncidas, barreras mecánicas, enzimas, toxinas, etc.

BARRANTES (2000) plantea relaciones intervariables en el tránsito al efecto patológico, que resultan de las interacciones en el cuadrado de la enfermedad. Señala que el efecto de la patogénesis en el cultivo se aprecia como un síntoma y es producto de la acción del patógeno virulento sobre la planta susceptible dentro de una atmósfera y un suelo favorable. Para el caso de la cercosporiosis, el tránsito al efecto patológico tiene fundamental importancia, por las diversas modalidades de adecuación ecológica de los ambientes y de los patosistemas. Resulta sumamente crítico la presencia de variabilidad de cultivares y de la diversidad de flora acompañante, así como la irregular topografía y el relieve quebrado de los ecosistemas tuneros. Si a ello le sumamos la presencia de tres o

cuatro biotipos probables de *Cercospora sp.*, interactuando en forma permanente, el tránsito al efecto resulta en una expresión positiva potencial para la administración de esta enfermedad.

#### **1.11. ASPECTOS EPIFITIOLOGICOS DE LAS ENFERMEDADES.**

Al explicar sobre las bases genéticas de las epifitias, DAY(1978) indica que el cultivo de plantas efectuado por el hombre implica divergencias significativas respecto al ecosistema natural. Uno de las más importantes es el reemplazo de la vegetación natural diversificada (muchas especies componentes) por plantas uniformes de una sola especie. En tales cultivos cada especie está representada generalmente por una sola variedad o, en algunos cultivos, por un solo clon compuesto de individuos genéticamente idénticos. En ecosistemas naturales, los componentes interactúan para producir lo que parece ser una condición relativamente estable o balanceada. De hecho, los organismos que los conforman pasan por constantes cambios evolutivos.

La presencia de genes de resistencia en la población hospedante, puede generar en poco tiempo el surgimiento de variantes del patógeno, llamadas razas fisiológicas que resultan virulentas o capaces de producir tanta enfermedad en plantas resistentes como en susceptibles. Un genotipo patógeno que exhibe la más grande capacidad parasítica a corto plazo, podría ser aquel que induce los mayores daños. De este modo, la máxima aptitud parasítica se reflejaría en una tasa aparente de infección generada por un patógeno sobre un hospedante dado; este patógeno podría no tener la misma aptitud de infección a largo plazo o no tener éxito reproductivo. Los genotipos parásitos de alta adecuación tienden a

ejercer presión de selección sobre las poblaciones hospedantes que tienen genotipos capaces de hacer frente al parásito.

## **1.12. LA CERCOSPORIOSIS DE LA TUNA.**

BARRANTES (2000) informa que la mayor o menor expresión de daños por la cercosporiosis en las plantas de tuna está directamente relacionada con la humedad relativa en el aire y la humedad en las pencas. Dadas las mejores condiciones ambientales en las localidades de Huanta, Cangallo y Fajardo, la cercosporiosis es permanente y de mayor severidad que en otros lugares de Ayacucho. En Huamanga, la incidencia ha disminuido debido a la mayor sequedad del aire y menor humedad en los cladodios.

### **1.12.1. Características generales del Género *Cercospora***

BARRANTES (1998) describe a *Cercospora*, como un género polífago que se encuentra distribuido en todos los ambientes donde crecen las plantas. Afectan a casi todas las familias de plantas, de preferencia hierbas y arbustos, aunque varios árboles pueden ser afectados. Tiene gran capacidad patogénica. En las lesiones necróticas es frecuente encontrar las estructuras del hongo, que facilita el diagnóstico; su gran esporulación se observa por la presencia de altas poblaciones de conidias en el envés y haz de las hojas.

AGRIOS (2005) manifiesta que todas las especies de *Cercospora* tienen una fisiología semejante y estructura casi inconfundible. Se disemina por el viento, ingresan por los estomas y su periodo de incubación es corto en plantas herbáceas y arbustos, pero algo prolongado en árboles. Este hongo produce conidios largos, delgados, multicelulares, incoloros a oscuros. Los conidios se desprenden con gran facilidad y a menudo son llevados a grandes distancias por

el viento. El hongo es favorecido por las altas temperaturas, de ahí que sea más en los meses de verano, en los climas cálidos. La mayoría de las especies de *Cercospora* producen la toxina no específica cercosporina que funciona como agente fotosensibilizante en las células vegetales, es decir, matan a las células del hospedante solo en presencia de luz. Aun cuando las esporas de *Cercospora* necesiten el agua para germinar y penetrar en sus hospedantes, el rocío abundante al parecer es suficiente para que produzca numerosas infecciones. El hongo inverna en las semillas y en las hojas afectadas ya maduras en forma de diminutos estromas negros.

#### **1.12.2. Síntomatología de la cercosporiosis**

BARRANTES(1998) menciona que las alteraciones se presentan principalmente en los cladodios y divergen mucho del tipo de daño que es propio de las cercosporiosis en plantas herbáceas. En cada punto de infección, la lesión se localiza en un área restringida redondeada, de 8 a 15 mm de diámetro y penetra hacia el mesófilo en forma de cono corto limitado por un tejido duro esclerenquimatoso producto del aislamiento del hongo. Sin embargo no deja de comunicarse con el parénquima, del cual obtiene agua y nutrientes. La pared superior de este cono necrótico está formado por un tejido compacto de micelio oscuro (masa estromática) de donde nacen cientos de conidióforos muy cortos, todos juntos una al lado de otro. Las lesiones tienen aspectos de costras negras rodeadas por una delgada zona pajiza, ligeramente abultada en toda la parte donde estén los conidióforos; son duras y secas.

Cuando las infecciones son múltiples, en el cladodio aparecen muchas costras, unas al lado de otras, siempre individualizadas, no produciéndose necrosis

extensiva. Según el tamaño del cladodio y de la exposición al inoculo, pueden desarrollarse de 5 a 200 lesiones en ambos lados. En las variedades susceptibles, no quedan superficie libre de costras en los cladodios sobre todo en los de 4,3 y 2 años de edad.

### **1.12.3. Ciclo de la *Cercospora* sp. sobre la penca**

BARRANTES (1998) informa que el ciclo patogénico de la cercosporiosis se conforma de etapas complejas donde participa únicamente la fase anamórfica (*Cercospora*). De acuerdo al tipo de infección se trata de una enfermedad policíclica restringida o monocíclica anual, porque la repetición de nuevas infecciones es escasa en razón a que la gran llegada de inóculo ocurre solo en una etapa del año para producir alto número de infecciones, mientras que otras de poco significado lo hacen tardíamente y no ocasionan mayores daños. En el caso de Huanta, la cercosporiosis se repite en dos oportunidades (noviembre-abril y junio-octubre) debido al uso de agua de riego para producir frutos fuera de estación, en lo que también influye la mayor temperatura y mayor humedad relativa del aire; por ello la vulnerabilidad siempre está presente y es incrementada por el sistema de producción. Para Cangallo, Huamanga, Churcampa y Pampas la enfermedad solamente tiene lugar entre primavera y verano de cada año, de modo que la tolerancia o resistencia de las plantas se recupera en los meses de otoño e invierno, al mismo tiempo que la vulnerabilidad de las plantas es limitada y protegida por el estado biológico del patosistema natural y el estado atmosférico. *Cercospora* sp. vive conservándose en el suelo como estromas o en la planta de tuna como estromas latentes en las lesiones permanentes.

### 1.13 ANTECEDENTES DE INVESTIGACION

Según QUEZADA et al. (2006) efectuaron estudios sobre la Etiología De La Mancha Negra Del Nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill) en Tlalnepantla, Morelos, México. Utilizando cladodios con síntomas aislaron los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* y *Pseudocercospora* sp.. Aplicaron los postulados de Koch para determinar la patogenicidad de *Pseudocercospora* sp.; la inoculación con *Pseudocercospora* sp. produjo manchas negras circulares semejantes a las lesiones iniciales en las pencas utilizadas. Concluyeron que *Pseudocercospora* sp., es el agente causal de esta enfermedad.

La especiación de este hongo fue realizada por OCHOA (2012) estableciéndose el nombre de *Pseudocercospora opuntiae* para el patógeno de la mancha negra.

SCHEFFER (1969) efectuó estudios en cercosporiosis de lechuga (*Lactuca sativa* L.) causada por *Cercospora longissima*; informa que logró cultivar al hongo utilizando como medios más apropiados a PDA (Papa dextrosa agar) para el crecimiento y V8-Agar para esporulación.

Según GOMEZ (2003) en su tesis titulada Sintomatología de la cercosporiosis (*Cercospora Opuntiae*) en tres comunidades de la Provincia De Huanta – Ayacucho, UNSCH, las lesiones son más frecuentes en cladodios de 2-3 años; que van madurando o aquellas maduras son más susceptibles a la infección.

De las 50 lesiones evaluadas, 11 llegaron a completar su ciclo a *Cercospora* (22%) y 12 a *Mycosphaerella* (24%) 27 lesiones no completaron su desarrollo permaneciendo en zonas necróticas en los cladodios (58.8%). La duración total del cambio de la Fase I a la Fase VI para *Cercospora* fue de 141 días equivalente a 4.5 meses; para *Mycosphaerella* fue de 129 días equivalente a 4.0 meses.

## **CAPITULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1 LUGAR DEL EXPERIMENTO**

La investigación se realizó en dos ámbitos: en los Laboratorios de Genética y Biotecnología Vegetal, y Fisiología Vegetal de la E.F.P de Agronomía de la FCA-UNSCH. Los trabajos de campo se desarrollaron en el Anexo de San Luis, Distrito de Huanta a 2628 msnm.

#### **2.2 CONDICIONES CLIMÁTICAS**

Los datos meteorológicos fueron registrados en la Estación Meteorológica de Huanta de la Red Hidrometeorológica del Gobierno Regional de Ayacucho ubicada a 2722 msnm.

Los registros meteorológicos utilizados corresponden al periodo entre octubre del 2013 a setiembre de 2014; las temperaturas máxima media anual, mínima media anual y media anual fueron de 25.14, 9.28 y 17.21 °C, respectivamente. Según el balance hídrico las condiciones húmedas se presentan en los meses de noviembre a marzo y un déficit de humedad entre setiembre y octubre.

**Cuadro 2.1.** Temperatura (máxima, mínima y media); Precipitación y Balance hídrico promedio mensual de Octubre de 2013 – Setiembre de 2014, Estación Meteorológica de Huanta a 2722 msnm – Ayacucho.

**ESTACION** :HUANTA **Latitud:** : 12°56'51"S **Dpto:** AYACUCHO  
**CODIGO** : 026 **Longitud:** : 74°14'00"W **Prov:** HUANTA  
**AÑO** **2013-2014** **Altitud:** : 2722 msnm **Dist:** HUANTA

AÑO	2013					2014					TOTAL	MEDIA	
	OCT.	NOV.	DIC.	ENE	FEB.	MAR.	ABR.	MAY.	JUN.	JUL.			AGOS.
T° Máxima media mensual (°C)	25.43	26.35	23.90	23.98	24.66	23.68	24.39	25.17	25.48	25.70	26.10	26.80	25.14
T° Mínima media mensual (°C)	10.24	10.68	10.05	10.74	11.14	10.57	9.73	8.80	7.43	6.30	7.10	8.60	9.28
T° Media mensual (°C)	<b>17.83</b>	<b>18.51</b>	<b>16.98</b>	<b>17.36</b>	<b>17.90</b>	<b>17.13</b>	<b>17.06</b>	<b>16.99</b>	<b>16.46</b>	<b>16.00</b>	<b>16.60</b>	<b>17.70</b>	17.21
ETP(mm)	<b>122.64</b>	<b>130.22</b>	<b>136.52</b>	<b>125.22</b>	<b>110.07</b>	<b>111.18</b>	<b>112.69</b>	<b>124.36</b>	<b>118.97</b>	<b>120.80</b>	<b>122.26</b>	<b>120.52</b>	1455.45
Precipitación (mm)	61.00	75.10	168.60	117.20	71.00	118.90	31.40	15.20	10.50	10.60	25.80	39.70	745.00
ETP ajustado (mm)	62.78	66.66	69.88	64.10	56.34	56.91	57.68	63.66	60.90	61.83	62.58	61.69	
Humedad del suelo (mm)	<b>-1.78</b>	<b>8.44</b>	<b>98.72</b>	<b>53.10</b>	<b>14.66</b>	<b>61.99</b>	<b>-26.28</b>	<b>-48.46</b>	<b>-50.40</b>	<b>-51.23</b>	<b>-36.78</b>	<b>-21.99</b>	
Exceso (mm)		8.44	98.72	53.10	14.66	61.99							
Déficit (mm)	1.78						26.28	48.46	50.40	51.23	36.78	21.99	

**Fuente:** Red Hidrometeorológica de la Gerencia General de Infraestructura del Gobierno Regional de Ayacucho.

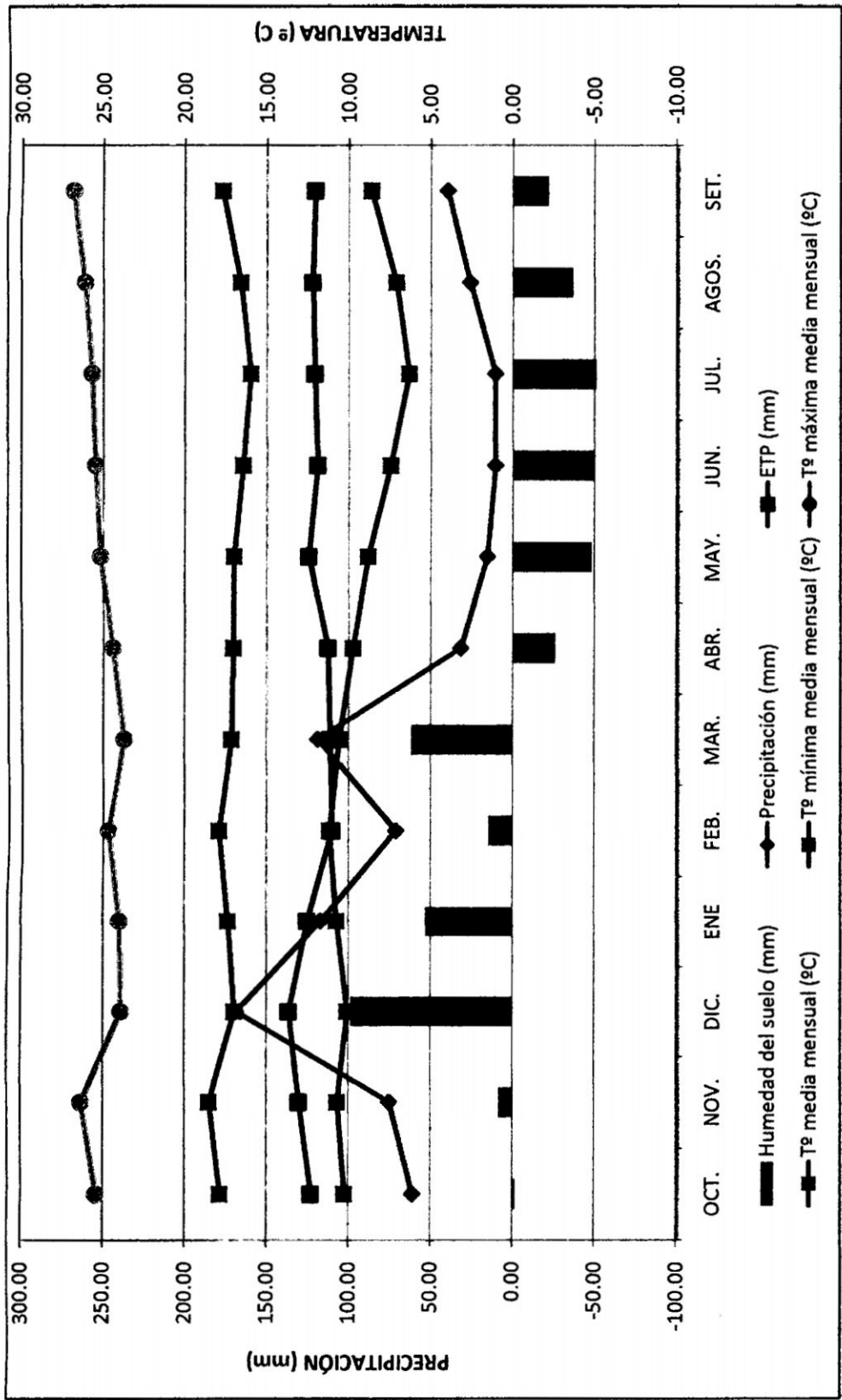


Gráfico2.1. Datos hidrometeorológicos de la Estación meteorológica de Huanta.

## 2.3 RECURSOS, PROCESOS Y PROCEDIMIENTOS ESTABLECIDOS.

### 2.3.1. RECURSOS DE INVESTIGACIÓN

✓ **Treinta accesiones de tuna**

Se trabajó con 27 accesiones de *Opuntia ficus indica* Mill. y tres de *Opuntia robusta* W. del Banco de Germoplasma de Pucaqasa del Centro Experimental Wayllapampa.

Códigos arbitrarios	Códigos Aproximados del Banco de Germoplasma	Ubicación GPS UTM UPS
P1	C44	0586060; 8553765
P2	C37	0586091; 8553765
P3	C30	0586096; 8553760
P4	C15	0586101; 8553763
P5	C26	0586097; 8553768
P6	C41	586078; 8553781
P7	C10	0586063; 8553798
P8	C40	0586080; 8553782
P9	C21	0586100; 8553768
P10	C16	0586105; 8553770
P11	C24	0586073; 8553794
P12	C36	0586071; 8553800
P13	C13	0586070; 8553802
P14	S3	0586072; 8553805
P15	S8	0586074; 8553809

Códigos arbitrarios	Códigos Aproximados del Banco de Germoplasma	Ubicación GPS UTM UPS
<b>P16</b>	S6	0586078; 6553802
<b>P17</b>	S5	0586086; 8553810
<b>P18</b>	V1	.-
<b>P19</b>	T1	.-
<b>P20</b>	T4	.-
<b>P21</b>	T5	.-
<b>P22</b>	T10	.-
<b>P23</b>	T11	.-
<b>P24</b>	T16	.-
<b>P25</b>	T18	.-
<b>P26</b>	FSC	0586143; 8553837
<b>P27</b>	RTA	0586093; 8553841
<b>P28</b>	MX	.-
<b>P29</b>	VA (Am)	0586048; 8553764
<b>P30</b>	F1	.-

✓ **Zona endémica de la Cercosporiosis.**

San Luis (Huanta) es considerada una zona endémica de la Cercosporiosis por la mayor variabilidad fisiológica del patógeno y la existencia de diversidad de tunas muy susceptible que mantiene altas densidades de inóculo anualmente. Las plantaciones de tres cultivares locales de tuna morada y dos de tuna blanca comerciales (Cayhua y Blanca Común) que se mantienen en áreas significativas, constituye una superficie continua de tejido tolerante o

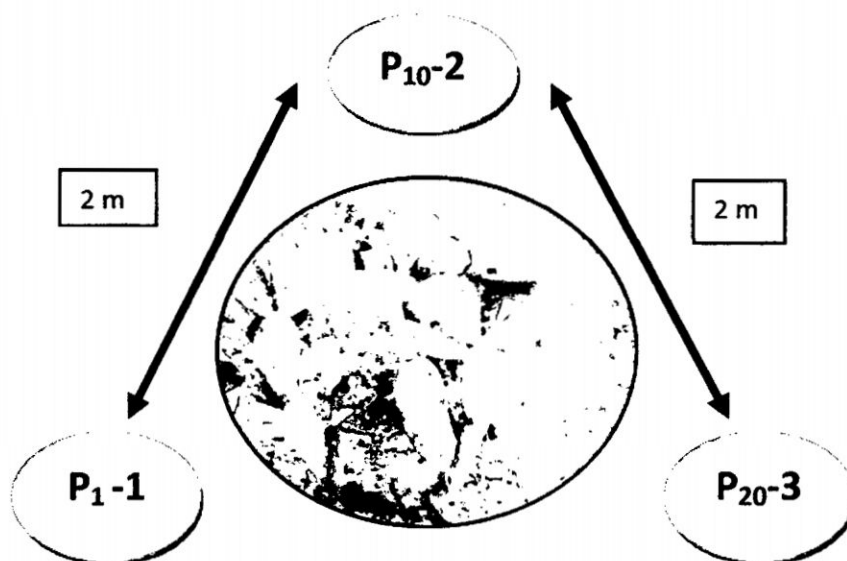
susceptible que regula ciertas combinaciones entre hospedante y parásito, aumentando el inóculo disponible para la evaluación de las accesiones de tuna en estudio.

### 2.3.2. EVALUACIÓN DE GERMOPLASMA DE TUNA PARA RESISTENCIA/SUSCEPTIBILIDAD

#### ✓ Plantación y distribución de las pencas de tuna.

La plantación se realizó el día 09/11/2013. Antes de la misma, las pencas se colocaron en un sitio seco y bajo sombra para favorecer el cicatrizado de la zona de corte, durante 7-20 días.

De cada accesión se plantaron tres pencas, cada una en una maceta y se ubicaron alrededor de una planta infectada, a una distancia de 2 metros, como se muestra en la figura 2.2. En cada vértice del triángulo formado se colocaron accesiones diferentes dispuestas al azar; como se puede observar en el siguiente croquis:



**Gráfico 2.2.** Croquis de distribución de las accesiones de tuna alrededor de la fuente de inóculo de esporas de *Cercospora sp.* en el anexo San Luis, Huanta.

✓ **Prueba experimental de campo para resistencia/susceptibilidad.**

Para evaluar la resistencia de las accesiones a *cercospora sp.*, a nivel de campo, se dispusieron las pencas al azar y en bloques en un área de tunas con cercosporiosis, para lograr infección natural.

Se utilizó el diseño experimental bloques completos al azar (DBCA) con arreglo factorial de 16 evaluaciones y 30 accesiones de tuna; se organizaron tres bloques en cada uno de los cuales se distribuyeron al azar las 30 accesiones de tuna plantadas en macetas. La unidad experimental es una maceta con la correspondiente accesión de tuna. El modelo aditivo lineal es:

$$X_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

**Donde:**

$X_{ij}$  = es una observación cualquiera de la  $i$  – ésima accesión y  $j$  – ésimo bloque

$\mu$  = es el promedio de las unidades experimentales.

$\tau_i$  = es el efecto de la  $i$  – ésimo accesión.

$\beta_j$  = es el efecto del  $j$  – ésimo bloque.

$\varepsilon_{ij}$  = es el error experimental.

$i$  = es el subíndice de cada accesión, varía 1,2, ...  $t$

$j$  = es el subíndice de cada de bloques, varía 1,2, ...  $r$

$t$  = es el número de accesiones.

$r$  = es el número de bloques o repeticiones.

El nivel de significancia escogido fue del 0.05. Se empleó la prueba de Tukey para la comparación de promedios.

## Factor accesiones de tuna (A)

Niveles:

P1	P16
P2	P17
P3	P18
P4	P19
P5	P20
P6	P21
P7	P22
P8	P23
P9	P24
P10	P25
P11	P26
P12	P27
P13	P28
P14	P29
P15	P30

## Factor Fechas de evaluación (F)

### Niveles:

25/01/2014	1ra
08/02/2014	2da
22/02/2014	3ra
08/03/2014	4ta
22/03/2014	5ta
05/04/2014	6ta
19/04/2014	7ma
03/05/2014	8ava
17/05/2014	9na
31/05/2014	10ma
14/06/2014	11ava
28/06/2014	12ava
12/07/2014	13ava
26/07/2014	14ava
09/08/2014	15ava
06/09/2014	16ava

### Repeticiones

Están conformadas por tres repeticiones por cada accesión.

**BLOQUE I**

P <sub>1</sub>	P <sub>11</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>17</sub>	P <sub>20</sub>	P <sub>10</sub>	P <sub>8</sub>	P <sub>6</sub>	P <sub>26</sub>	P <sub>15</sub>	P <sub>25</sub>	P <sub>9</sub>	P <sub>21</sub>	P <sub>19</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>27</sub>	P <sub>18</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>14</sub>	P <sub>23</sub>	P <sub>13</sub>	P <sub>30</sub>	P <sub>22</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>16</sub>	P <sub>29</sub>	P <sub>12</sub>	P <sub>28</sub>	P <sub>24</sub>	P <sub>7</sub>
----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------

**BLOQUE II**

P <sub>10</sub>	P <sub>20</sub>	P <sub>15</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>21</sub>	P <sub>18</sub>	P <sub>8</sub>	P <sub>13</sub>	P <sub>7</sub>	P <sub>26</sub>	P <sub>12</sub>	P <sub>9</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>29</sub>	P <sub>14</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>19</sub>	P <sub>16</sub>	P <sub>27</sub>	P <sub>17</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>24</sub>	P <sub>30</sub>	P <sub>11</sub>	P <sub>25</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>28</sub>	P <sub>23</sub>	P <sub>6</sub>	P <sub>22</sub>
-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------

**BLOQUE III**

P <sub>20</sub>	P <sub>16</sub>	P <sub>25</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>15</sub>	P <sub>19</sub>	P <sub>6</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>26</sub>	P <sub>11</sub>	P <sub>18</sub>	P <sub>27</sub>	P <sub>7</sub>	P <sub>14</sub>	P <sub>14</sub>	P <sub>12</sub>	P <sub>28</sub>	P <sub>22</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>30</sub>	P <sub>10</sub>	P <sub>29</sub>	P <sub>8</sub>	P <sub>23</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>24</sub>	P <sub>13</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>21</sub>	P <sub>17</sub>	P <sub>9</sub>
-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	-----------------	----------------

✓ **Evolución de la sintomatología de Cercosporiosis**

El registro del avance o cambio morfológico de las lesiones se realizó quincenalmente durante 10 meses a partir de diciembre y concluyendo en setiembre del siguiente año.

✓ **Registro de cambios en los síntomas.**

En las evaluaciones quincenales de las muestras, se anotaron las variaciones por las que pasan las lesiones desde su forma inicial de infección, invasión de tejidos y reproducción. Para cada lesión se registraron las modificaciones estructurales y de color en el tiempo; sólo se consideraron las que llegaron a la Fase VI y no han sido interrumpidos por ningún factor climático o biológico.

✓ **Evaluación de la severidad de la Cercosporiosis.**

En cada una de las accesiones de las tunas se realizó el conteo de lesiones de la FASE VI, para evaluar el progreso de la severidad, según la escala de daño en porcentaje de área afectada. El registro de síntomas se realizó cada quince días; la severidad se midió en ambas caras de la penca.

La escala Tabla para calificar la severidad de la enfermedad se muestra a continuación:

**Cuadro 2.2.** Escala de severidad de la Cercosporiosis. (ANEXO 5)

<b>Grados</b>	<b>% Severidad</b>		<b>Punto medio</b>
1	0% (penca sana)		0
2	1	5	3.0
3	6	12	9.0
4	13	26	19.5
5	27	40	33.5
6	41	54	47.5
7	55	100	77.5

### **2.3.3. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE ACCESIONES DE TUNA**

#### **✓ Descriptores morfológicos para la tuna.**

a) En el Banco de Germoplasma de tuna de Pucallpa, se seleccionaron plantas de tuna con más de 5 años de edad (plantadas en los años 80's), que no presentaban alteraciones nutricionales o problemas fitosanitarios para evaluarse cinco caracteres de planta.

b) Para cladodios, se seleccionaron 5 pencas maduras en buenas condiciones estructurales y fisiológicas de diferentes plantas de la misma accesión. Se evaluaron 23 caracteres de cladodio.

c) La caracterización morfológica se efectuó con los Descriptores Morfológicos de Opuntia, establecidos por Chessa, Innocenza, Nieddu y Giovanni (1997), Chessa I.; Nieddu G.; De Pau L.; Satta D. (2002) y Quispe (2003).

### **2.3.4. AISLAMIENTO DEL PATÓGENO.**

#### **✓ Preparación de medios de cultivo para aislamiento del patógeno de la cercosporiosis.**

Para la preparación de los medios de cultivo se consideraron referencias generales sobre uso de medios en aislamiento de patógenos fúngos. En razón a que *Cercospora sp.* es un parásito biótrofo en la tuna, la variante incluida en los medios fue el jugo de la penca de tuna. (500 gr/litro de medio de cultivo).

<b>NOMBRE DEL MEDIO DE CULTIVO</b>	<b>ABREVIATURA</b>
Papa dextrosa agar	PDA
Papa agar tuna-cladodio	PATS/100 gr
Agar tuna-cladodio joven sucrosa	ATjS
Agar tuna-cladodio viejo sucrosa	ATvS
Agar V8 sucrosa	AV8S
Agar tuna cladodio joven sucrosa microelementos	ATjS – ME
Agar tuna cladodio viejo sucrosa microelementos	ATvS – ME
Agar V8 sucrosa microelementos	AV8S – ME

Se prepararon ocho medios nutritivos semisintéticos: PDA (papa dextrosa agar), PAT/100 gr (Papa, agar, tuna cladodio), ATjS (agar tuna cladodio joven<sup>1</sup>sucrosa), ATvS (agar tuna cladodio vieja<sup>2</sup>sucrosa), AV8S (agar, V8 sucrosa), ATjS-ME (agar tuna cladodio joven sucrosa y microelementos), ATvS-ME (Agar tuna cladodio vieja sucrosa y microelementos) y AV8S-ME (agar, V8 sucrosa y microelementos). Para prevenir el crecimiento bacteriano, a todos los medios se les agregó el antibiótico Estreptomina.

La composición de cada medio nutritivo fue la siguiente:

**PDA(papa dextrosa agar)**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Papa cortada .....	250.00 gr
Agar.....	18.00 gr
Dextrosa.....	10.00 gr

1. ATjS, pencas de tunas de uno a dos años de edad
2. ATvS, pencas de tuna mayor a 3 años.

**PATS/100 gr (Papa agar tuna cladodio)**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Papa cortada .....	250.00 gr
Agar .....	18.00 gr
Penca de tuna.....	100.00 gr
Sucrosa .....	10.00 gr

**ATjS (Agar tuna cladodio joven sucrosa)**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Agar .....	18.00 gr
Penca de tuna joven .....	500.00 gr
Sucrosa .....	10.00 gr

**ATvS (Agar tuna cladodio viejosucrosa)**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Agar .....	18.00 gr
Penca de tuna vieja .....	500.00 gr
Sucrosa .....	10.00 gr

**AV8S (Agar V8 sucrosa)**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Agar .....	18.00 gr
V8 .....	200.00 ml
Sucrosa .....	10.00 gr

**ATjS-ME(Agar tuna cladodio joven sucrosa y Microelementos)**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Agar .....	18.00 gr
Penca de tuna joven .....	500.00 gr
Sucrosa .....	10.00 gr
ME .....	1.00 ml

**ATvS-ME (Agar tuna cladodio viejo sucrosa y Microelementos)**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Agar .....	18.00 gr
Penca de tuna vieja . .....	500.00 gr
Sucrosa .....	10.00 gr
ME .....	1.00 ml

**AV8S-ME (Agar, V8 sucrosa y Microelementos).**

Agua destilada .....	1000.00 ml
Agar .....	18.00 gr
V8 .....	200.00 ml
Sucrosa .....	10.00 gr
ME .....	1.00 ml

**\*Micro elementos**

Agua destilada .....	1000.00 ml
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0.6 gr
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O .....	0.4 gr
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	2.6 gr
CuSO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O .....	4.0 gr
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	0.0006 gr

\*Se aplicó 0.8 ml de Estreptomina por litro de medio de cultivo.

✓ **Uso de lesiones de cercosporiosis para aislamiento.**

El aislamiento del patógeno se realizó a partir de tejidos enfermos de las pencas; las muestras fueron obtenidas de San Luis – Huanta.

Para el aislamiento, de cada lesión se cortó un trozo pequeño de aproximadamente 2cm<sup>2</sup>, que incluyó una parte sana y otra enferma, de manera que se observe el límite de ambos.

Los pequeños trozos de penca se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2.0% durante 2 minutos, luego con alcohol al 75 % durante 3 minutos; se enjuagó con agua destilada estéril; se secaron sobre toallas de papel esterilizadas y se sembraron en los diferentes medios de cultivo.

Para el uso de lesiones en los ocho medios elaborados, se consideró el trabajo de Gómez (2003) colectándose las lesiones o estadios de desarrollo del patógeno desde la infección hasta su reproducción. Estas lesiones se caracterizaron de la siguiente manera:

<b>FASE DE LA LESIÓN</b>	<b>CARACTERÍSTICA</b>
FASE 1 (I)	Lesión translúcida, de aspecto aceitoso, redondeado.
FASE 2 (II)	Lesión de color marrón, aún permanece abultado.
FASE 3 (III)	Lesión ligeramente hundida, de color marrón oscuro.
FASE 4-5 (IV-V)	Lesión hundida de color crema.
FASE 6 (VI)	Lesión compacta con un halo de color crema y centro negro.

Utilizando una pinza desinfectada, se procedió a transferir cinco trozos de penca a cada placa de petri que contenía el medio de cultivo correspondiente. Una vez sembrada la muestra, se puso en una estufa a 25°C. A los cinco días se verificó el desarrollo y la pureza del cultivo.

✓ **Crecimiento de colonias.**

Pasado los cinco días, los aislamientos se expusieron a la luz blanca fluorescente durante 20 o más días para inducir la esporulación, a temperatura ambiente de laboratorio (24 ± 2 °C).

## **2.4 PARÁMETROS EVALUADOS**

### **2.4.1. Resistencia de campo.**

Se expresa cuantitativamente como presencia de escasas lesiones o ninguna de ellas en las pencas expuestas al inóculo de *cercospora* sp.; puede incluirse como parte de la resistencia de campo, la presencia de lesiones con desarrollo incompleto en las cuales no se reproduce el patógeno.

### **2.4.2. Susceptibilidad de campo.**

También se puede registrar cuantitativamente cuando la susceptibilidad del cultivar muestra una superficie afectada de manera significativa. Las lesiones y el área infectada ocupan gran parte del cladodio, por uno o ambos lados del cladodio.

La evaluación de resistencia o susceptibilidad se determinaron calculando el Índice de Severidad, mediante una escala de área infectada expresada en porcentaje (figura 2.2). La escala se aplicó a cada accesión de tuna y a todas las repeticiones en 16 evaluaciones quincenales.

#### **2.4.3. Caracterización morfológica de la penca.**

La caracterización de vegetales es el registro de información cualitativa y cuantitativa de las características estructurales del órgano o planta en evaluación, que permite diferenciar la variabilidad de las accesiones de germoplasma dentro de una especie. Para registrar la variabilidad morfológica de las accesiones de tuna en estudio, se evaluaron cinco caracteres de planta y 23 caracteres de cladodio. Ver ANEXO 1.

#### **2.4.4. Calidad del medio para crecimiento y esporulación.**

Para determinar el medio más apropiado para el crecimiento y esporulación del patógeno en aislamiento, se realizó una prueba de diversidad de medios nutritivos. Se utilizaron ocho medios de cultivos en los cuales se sembraron tejidos de penca en distintas fases de desarrollo de sintomatología, para determinar cuál de los medios ofrecía mejor sustrato para el crecimiento y esporulación. Se consideró además determinar el tiempo necesario de crecimiento en las placas hasta la reproducción del patógeno (formación de pseudotecios).

## **CAPÍTULO III**

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

El procedimiento de evaluación establecido y los recursos utilizados en los trabajos de campo y laboratorio, permitieron logran información suficiente para cubrir los objetivos planteados.

#### **3.1 EVALUACIÓN DE RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A *Cercosporasp.* CAUSANTE DE CERCOSPORIOSIS EN 30 ACCESIONES DE TUNA.**

##### **3.1.1. Evaluación de la sintomatología de campo desarrollada en las accesiones de tuna en estudio.**

La observación y registro de lesiones necróticas desarrolladas en las accesiones de tuna con la finalidad de conocer su susceptibilidad o resistencia a *Cercosporasp.*, se inició con el reconocimiento de las lesiones y su evolución durante las temporadas de primavera – verano y otoño – invierno. Con el trabajo de GOMEZ (2003) se determinó que las lesiones de cercosporiosis muestran cambios morfológicos y estructurales durante un periodo de 2.8 – 3.0 meses. Estos cambios incluyen variaciones de color y aspecto de la lesión,

cada uno de los cuales caracteriza a las lesiones y expresa una parte del ciclo biológico de *Cercospora sp.* en la penca.

El desarrollo de la sintomatología estuvo supeditado a la condición fisiológica de las pencas y a su estado vegetativo; cada maceta no representó una planta entera con un estado fisiológico continuo en el cual se expresarían mejor las infecciones por el patógeno. Esta limitación debe haber modificado la acción patogénica y la respuesta de sensibilidad por parte de las variedades de tuna. Surgieron lesiones que no completaron su evolución estructural y no permitieron al patógeno invadir los tejidos infectados y reproducirse.

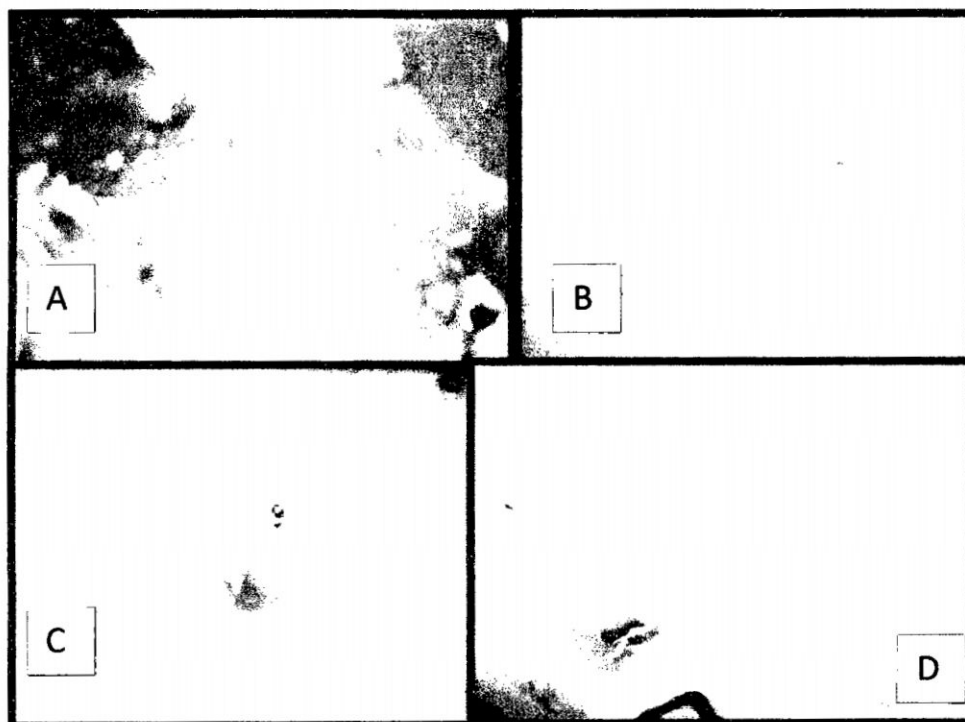
Esta respuesta de interacción entre los tejidos y el patógeno es frecuente en las enfermedades de la tuna en Ayacucho (cercosporiosis y mancha plateada) (BARRANTES, 1998), en razón a que la fisiología de la planta varía con las condiciones estructurales de tejidos, las reacciones celulares y las acciones bioquímicas del patógeno (AGRIOS, 2005). La mayoría de las lesiones se expresaron como cercosporiosis después de pasar la Fase 3; llegando a completar el ciclo (GÓMEZ, 2003). La falta de evolución de las lesiones hacia fases avanzadas de invasión y reproducción del patógeno, puede deberse también al efecto bioquímico de la accesión porque durante la interacción patogénica, determinadas accesiones tienen capacidad para retardar o anular la evolución de las lesiones, lo cual podría ser una respuesta genética de tolerancia o resistencia a la infección (HAMMERSCHMIDT et. al, 2000) de determinadas accesiones, impidiendo la reproducción del parásito. Se considera que, normalmente, las lesiones no evolucionan debido a alteraciones tisulares nutritivas en el punto de infección no favorable para el hongo o respuestas de rechazo bioquímico al patógeno por parte de la penca. Se

conoce que la distribución de nutrientes en la penca es muy variada y se expresa de modo irregular, existiendo zonas más nutritivas hacia los extremos del cladodio, como es frecuente con la polaridad nutricional de todas las plantas (BARRANTES, 1998); se observó que en cortas distancias sobre la penca, las diferencias entre las estructuras de las lesiones son amplias.

Por las consideraciones expuestas, no todas las lesiones llegaron a esporular, muchas de ellas no completaron el ciclo biológico; en razón a ello, no se contabilizó la cantidad de lesiones producidas, sino el porcentaje de área dañada. Muchas de las lesiones evolucionaron a seis fases (GOMEZ, 2003), con las tres primeras bien diferenciadas; la cuarta y la quinta no se diferenciaron; la sexta mostró la reproducción.

La fase 1 (Gráfico 3.1) es una lesión translúcida, de aspecto aceitoso, ligeramente abultada. Se presentó después de un mes de la plantación en las accesiones P1, P2, P3, P5, P17, P15 y P4, de las cuales no todas completaron su ciclo. Estas lesiones son producto de la diseminación de esporas proveniente de pencas enfermas de las fuentes de inóculo.

En razón a que la tuna abre sus estomas durante la noche y los cierra casi totalmente durante el día, las conidias tienen mayor oportunidad de penetrar por los estomas en horas de la noche (BARRANTES, 1998) y debido al alto nivel de acidez (ácido málico) de la penca por la noche, la infección se realiza de día.

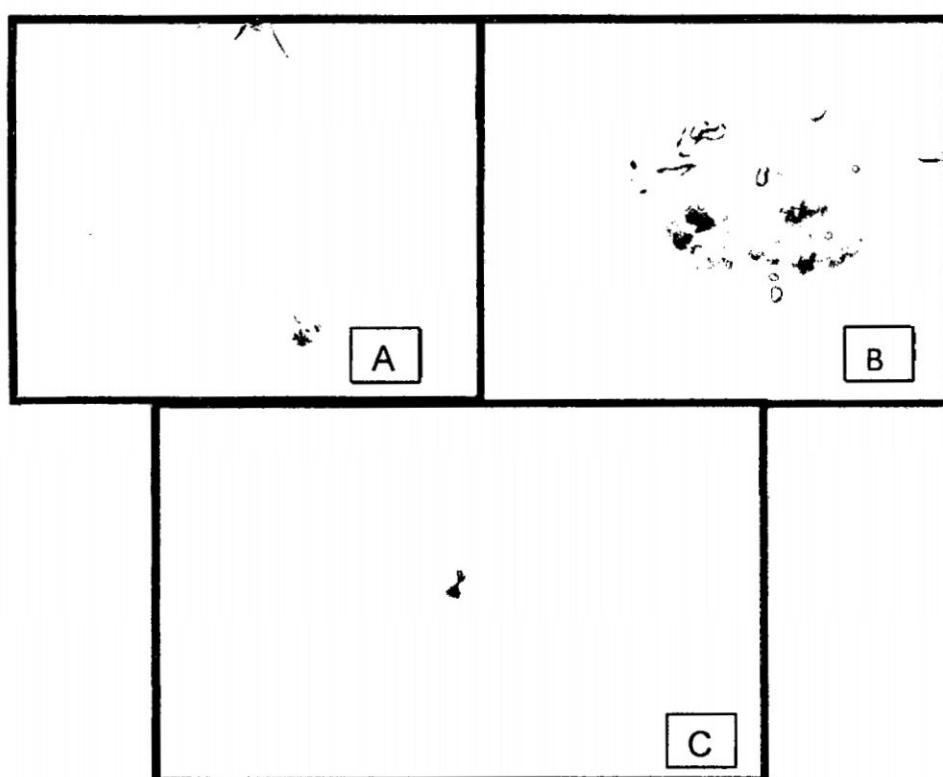


**Gráfico 3.1.** Fase I de la cercosporiosis, (San Luis-Huanta).A y B lesiones redondas, ligeramente cloróticas y translúcidas, pequeñas de 6 mm, registradas a un mes de la plantación en las accesiones P4 y P1. C y D lesiones ligeramente redondeadas y cloróticas, de mayor tamaño (1.5 mm) registradas en la 13ava fecha de evaluación en las accesiones P5 y P29.

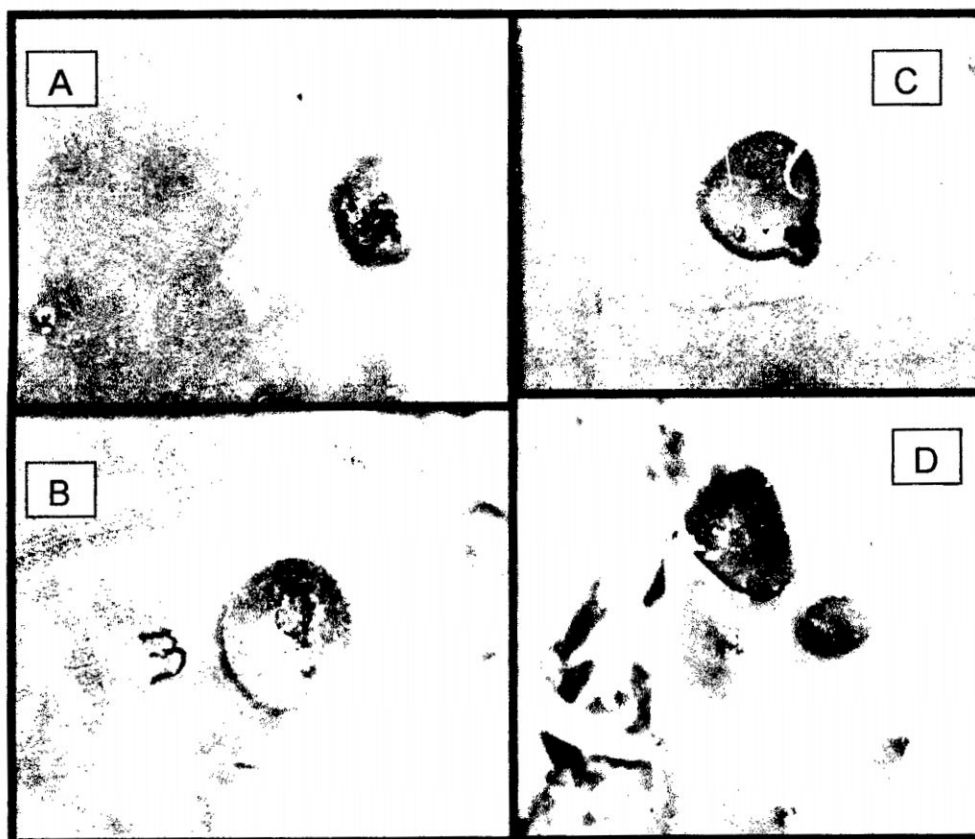
En los gráficos 3.2 y 3.3 se observan las lesiones de la fase II y III, las cuales se caracterizan por estar activas mayor tiempo y encontrarlas con regularidad. Muy pocas de ellas han quedado suspendidas en esta fase, pero cuando entran a la fase IV ó V no todas continúan con su normal desarrollo. Para pasar a la Fase II, se expresa un cambio de color, pero no de forma, la lesión sufre oxidación del tejido afectado, sin expandirse más allá de los límites fijados de abscisión generado por la reacción del tejido. (GOMEZ, 2003).

Al inicio de la fase II, aún permanece el abultamiento de la lesión, pero esta vez de color marrón oscuro. En esta fase tampoco se visualiza la dirección que tomará la lesión, es decir continua siendo fase común para los

hongos *Cercospora* y *Didymosphaeria*. se sabe que algunos hongos son necrotróficos y otros biotróficos, cuya diferencia parece ser amplia; sin embargo, en ciertas etapas, los parásitos pueden expresar ambos tipos de nutrición (HAMMERSCHMIDT et. al, 2000); para *Cercospora* sp. de tuna se conoce que es biótrofo durante las seis fases, mientras que para *Didymosphaeria* sp. se sabe que es hemibiótrofo hasta la fase IV y luego participa como pertófito (BARRANTES, 1998).



**Gráfico 3.2.** Fase II de la cercosporiosis. B y C de accesiones P5 y P29 (San Luis-Huanta); se mantiene como lesión abultada de color marrón oscuro con exudación en parte central. A, de la accesión P22, lesión abultada, de color marrón rodeada de halo verde mostaza, sin exudación.

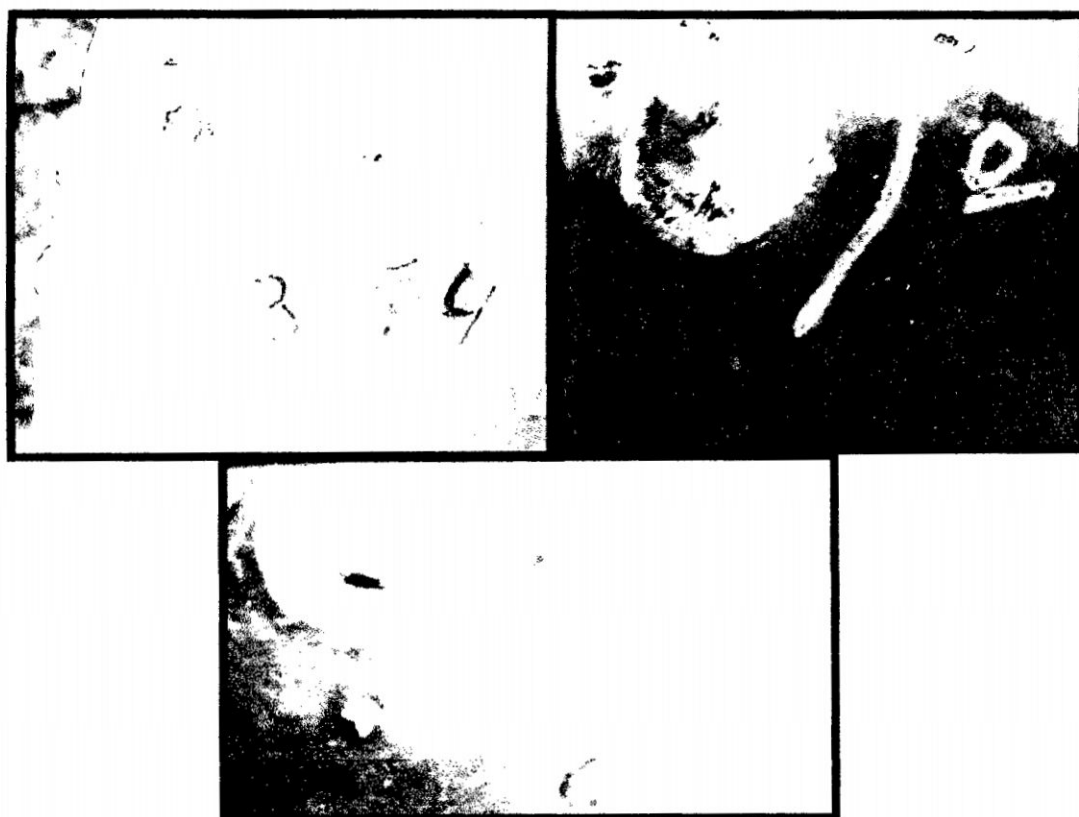


**Gráfico 3.3.** Fase III de la cercosporiosis(San Luis-Huanta). (A, B, C y D); lesiones hundidas de color marrón oscuro, rodeadas de un halo crema, con ligera exudación.

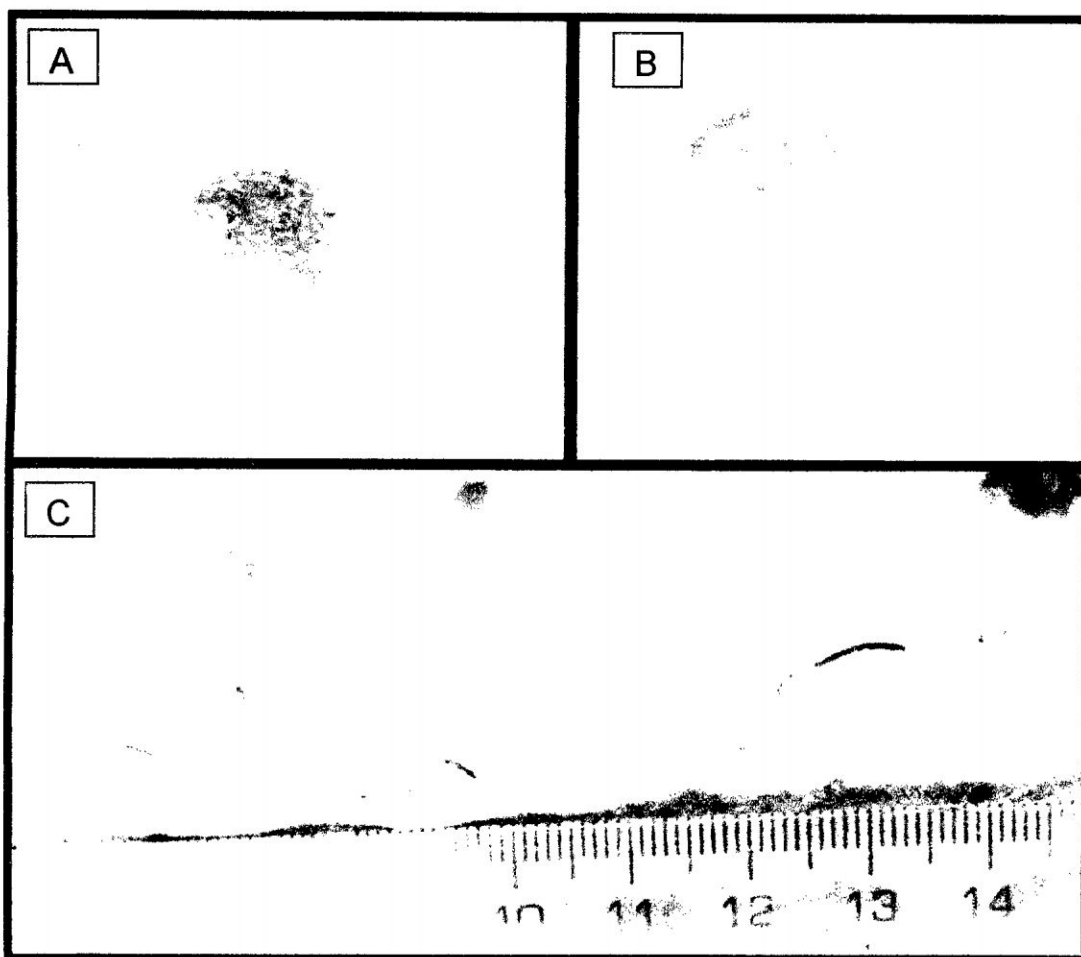
Las relaciones nutritivas del hongo con los tejidos de la penca, pueden darse de manera continua o cortarse de manera abrupta para detenerse indefinidamente o pasar, después de un breve tiempo, a otra fase. Como el caso de las lesiones de la fase IV a la fase V (Gráfico 3.4), que no tuvieron dificultad de interrupción en el cambio, pero posteriormente se ven interrumpidas, por dificultades nutricionales de crecimiento del hongo o influencia bioquímica de la penca (HAMMERSCHMIDT et. al, 2000).

Se considera que las lesiones que llegaron a la Fase VI (reproducción) permitieron que el patógeno muestre su capacidad patogénica (Gráfico 3.5) y al mismo tiempo tener en cuenta que tal respuesta es un indicador de la

susceptibilidad de la accesión. Con estos cambios finales, las lesiones permanecen varias semanas hasta que maduran los estromas de conidioforos, se producen las conidias y empieza con una nueva etapa de diseminación o la lesión se mantiene improductiva manteniendo solamente los racimos o estromas de conidióforos (BARRANTES, 1998).



**Gráfico 3.4.** Fases IV y V de la cercosporiosis (San Luis – Huanta). Las lesiones son hundidas de color ocre, rodeadas de un halo crema, y con una pequeña área en el centro de color negro (estromas de conidióforos que se encuentran en formación).



**Gráfico 3.5.** Fase VI de la cercosporiosis(San Luis-Huanta). Lesiones compactas de color negro, halo de color crema compacto. (A) y (B) lesiones de la accesión P29, que evolucionaron de las fases 4 y 5 (aún se observa un halo de color marrón oscuro rodeado por un anillo clorótico). En C, se observa varias lesiones maduras de la misma temporada.

### 3.1.2. Determinación del Índice de Severidad de cercosporiosis y análisis de la susceptibilidad y resistencia.

La disposición de las accesiones alrededor de las fuentes de inóculo, permitió exponer a las pencas a la infección natural al azar, tal como se planteó en el diseño de la prueba de susceptibilidad o resistencia de campo. La exposición de las accesiones a alta densidad de inóculo de *Cercospora sp.*, favoreció la respuesta esperada.

Durante los 10 meses de observación se evidenció que la mayor severidad de la enfermedad ocurre en el lado de la penca que tiene menor o escasa iluminación y mayor humedad relativa. Por otra parte, se desarrollaron más lesiones en las pencas de uno y dos años de edad, lo cual es frecuente en la relación entre la tuna y *Cercospora sp.*, mientras que las pencas maduras de tres o más años no favorecen las infecciones ni incrementan el número de lesiones que han adquirido cuando eran pencas menores a los 3 años (BARRANTES, 1998). Las pruebas de laboratorio indicaron que el uso de penca joven (1 – 2 años, medio agar tuna cladodio joven sucrosa, ATJS) contribuye a mejorar el crecimiento y desarrollo del patógeno.

En el cuadro 3.1 se muestra los resultados promedio de las evaluaciones quincenales de severidad en las 30 accesiones, que permitió clasificar las respuestas de las accesiones a las infecciones durante 10 meses de evaluación.

**Cuadro 3.1.** Evaluaciones quincenales de severidad de infección promedio en 30 accesiones de tuna (*Opuntia ficus-indica*

Mill).

ACCESIÓN/EVALUACIÓN	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15
1 25/01/2014	2.00	3.00	2.00	0.00	8.50	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	2.00	0.00	1.00
2 08/02/2014	4.00	5.00	4.00	1.00	8.50	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00	2.00	0.00	2.00	1.00	1.00
3 22/02/2014	4.00	5.00	4.00	1.00	14.00	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00	5.00	0.00	2.00	1.00	1.00
4 08/03/2014	6.00	5.00	4.00	2.00	18.67	1.00	0.00	2.00	0.00	1.00	5.00	1.00	2.00	1.00	1.00
5 22/03/2014	6.00	5.00	4.00	2.00	18.67	3.00	0.00	2.00	0.00	2.00	5.00	2.00	2.00	3.00	1.00
6 05/04/2014	6.00	5.00	4.00	2.00	23.33	3.00	1.00	2.00	1.00	2.00	5.00	2.00	2.00	3.00	1.00
7 19/04/2014	7.00	5.00	4.00	5.00	23.33	4.00	1.00	2.00	1.00	2.00	5.00	2.00	2.00	4.00	1.00
8 03/05/2014	7.00	5.00	4.00	5.00	23.33	4.00	1.00	2.00	2.00	2.00	5.00	4.00	2.00	4.00	1.00
9 17/05/2014	7.00	5.00	4.00	5.00	25.33	4.00	1.00	4.00	2.00	2.00	5.00	4.00	2.00	4.00	4.00
10 31/05/2014	7.00	5.00	4.00	5.00	33.50	4.00	1.00	4.00	2.00	2.00	5.00	4.00	2.00	4.00	4.00
11 14/06/2014	7.00	5.00	4.00	5.00	38.17	9.50	4.00	4.00	2.00	2.00	5.00	6.00	2.00	5.00	10.50
12 28/06/2014	12.50	10.50	7.00	9.00	38.17	9.50	4.00	4.00	2.00	2.00	5.00	6.00	2.00	7.00	14.00
13 12/07/2014	12.50	12.50	7.00	12.50	42.83	13.00	7.50	6.00	4.00	4.00	7.00	6.00	2.00	7.00	14.00
14 26/07/2014	16.00	12.50	10.50	12.50	52.83	13.00	7.50	6.00	4.00	4.00	7.00	6.00	4.00	10.50	14.00
15 09/08/2014	16.00	12.50	10.50	12.50	52.83	14.00	7.50	6.00	6.00	4.00	7.00	6.00	4.00	10.50	14.00
16 06/09/2014	24.17	12.50	12.50	16.00	62.83	14.00	9.50	9.50	9.50	4.00	9.00	6.00	6.00	12.50	16.00
<b>PROMEDIO</b>	<b>9.01</b>	<b>7.09</b>	<b>5.59</b>	<b>5.97</b>	<b>30.30</b>	<b>6.19</b>	<b>2.81</b>	<b>3.53</b>	<b>2.22</b>	<b>2.19</b>	<b>5.19</b>	<b>3.44</b>	<b>2.50</b>	<b>4.84</b>	<b>6.16</b>

Continuación..

ACCESIÓN/EVALUACIÓN	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	P26	P27	P28	P29	P30
1 25/01/2014	1.00	2.00	1.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	4.00	1.00
2 08/02/2014	2.00	4.00	4.00	0.00	0.00	0.00	5.00	1.00	0.00	1.00	2.00	0.00	0.00	6.00	2.00
3 22/02/2014	2.00	8.50	4.00	0.00	0.00	0.00	7.00	1.00	0.00	1.00	2.00	0.00	0.00	9.50	2.00
4 08/03/2014	4.00	10.50	4.00	0.00	0.00	0.00	7.00	2.00	0.00	1.00	2.00	0.00	0.00	10.50	3.00
5 22/03/2014	5.00	10.50	4.00	2.00	0.00	0.00	7.00	2.00	0.00	1.00	2.00	0.00	0.00	10.50	3.00
6 05/04/2014	5.00	10.50	4.00	2.00	0.00	0.00	7.00	2.00	0.00	1.00	2.00	0.00	0.00	12.50	3.00
7 19/04/2014	5.00	10.50	4.00	5.00	0.00	0.00	10.50	2.00	0.00	2.00	2.00	0.00	0.00	12.50	3.00
8 03/05/2014	5.00	10.50	4.00	7.00	0.00	0.00	10.50	2.00	0.00	2.00	2.00	0.00	0.00	12.50	3.00
9 17/05/2014	7.00	10.50	4.00	7.00	0.00	0.00	10.50	2.00	0.00	2.00	2.00	0.00	0.00	12.50	5.00
10 31/05/2014	7.00	10.50	4.00	7.00	0.00	0.00	10.50	2.00	1.00	2.00	2.00	0.00	0.00	16.00	5.00
11 14/06/2014	7.00	14.00	5.00	7.00	0.00	0.00	10.50	2.00	4.00	2.00	2.00	0.00	0.00	20.67	15.17
12 28/06/2014	7.00	18.67	7.00	12.50	0.00	0.00	20.67	2.00	8.50	2.00	2.00	0.00	0.00	25.33	18.67
13 12/07/2014	7.00	20.67	10.50	16.00	0.00	1.00	20.67	2.00	8.50	4.00	2.00	0.00	0.00	25.33	20.67
14 26/07/2014	7.00	20.67	10.50	16.00	0.00	1.00	20.67	2.00	8.50	4.00	2.00	0.00	0.00	28.83	20.67
15 09/08/2014	10.50	20.67	10.50	20.67	0.00	1.00	20.67	4.00	10.50	4.00	2.00	0.00	0.00	28.83	20.67
16 06/09/2014	15.17	20.67	10.50	24.17	0.00	1.00	20.67	4.00	10.50	4.00	2.00	0.00	0.00	33.50	24.17
<b>PROMEDIO</b>	<b>6.04</b>	<b>12.71</b>	<b>5.69</b>	<b>7.90</b>	<b>0.00</b>	<b>0.25</b>	<b>11.93</b>	<b>2.00</b>	<b>3.22</b>	<b>2.13</b>	<b>1.94</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>16.81</b>	<b>9.38</b>

Con los datos del cuadro 3.1 se efectuó el análisis de la variabilidad de la severidad registrada en las 30 accesiones en 16 momentos o fechas de evaluación.

En el cuadro 3.2 se resume el análisis de la variabilidad de severidad de infección registrada en 30 accesiones de tuna (*Opuntia ficus-indica* Mill) en 16 momentos de evaluación.

**1. Área de exposición.** La diferencia altamente significativa observada entre bloques experimentales (zonas de exposición de las accesiones al inóculo) indica que la distribución del inóculo en el campo experimental no fue uniforme y que el bloque III estuvo expuesto a mayor cantidad de inóculo que los bloques II y I (8.49, 5.39, 3.82 porcentaje promedio de severidad respectivamente). Esta disposición y la zona facilitaron las inoculaciones, de modo que las pencas susceptibles no pudieron escapar a las infecciones (AGRIOS, 2005) por encontrarse a cortas distancias el inóculo y con suficiente humedad en la atmósfera y la pencas para favorecer la penetración y germinación de esporas (BATEMAN, 1978).

**2. Accesiones.** La alta significación estadística evidenciada en las diferencias de severidad entre las accesiones, indica que algunas accesiones o varias de ellas han expresado diversos grados de severidad que varían de manera importante entre ellas, es decir, deben existir algunas accesiones muy susceptibles, otras tolerantes y pocas con resistencia, expresándose de este modo un rango significativo de respuestas a la infección. Estas respuestas de las accesiones se explica por las características de diversidad y variabilidad que se observan en los germoplasmas vegetales (QUEROL, 1998; BATEMAN, 1978).

**3. Momentos o fechas de evaluación.** De igual modo, la significación estadística entre fechas o momentos de evaluación es una evidencia de que las infecciones promedio siguieron una tendencia de aumento a lo largo de los 10 meses, mostrando diferencias altamente significativas entre fechas, en razón al mayor o menor incremento de infecciones por la susceptibilidad o tolerancia de las accesiones. Al respecto, DAY (1978) considera que las diferencias en el progreso de las epifitias tienen su base en la homogeneidad o diversidad cultivares dentro del área de producción. Por ello, la variabilidad genética que existe en las 30 accesiones muestra valores muy diferenciados en el progreso de la cercosporiosis a lo largo del año.

**Cuadro 3.2.** Análisis de variancia de los valores del factorial 30A x 16F de las Accesiones y Fechas de evaluación.

F de variación	G.L	SC	CM	Fc	Ft		
					F0.05	F0.01	
<b>BLOQUE</b>	2.00	165.58	82.79	132.39	3.0051	4.6274	**
<b>ACCESION (A)</b>	29.00	1194.23	41.18	65.85	1.4794	1.7301	**
<b>FECHAS(F)</b>	15.00	482.01	32.13	51.39	1.6768	2.0573	**
<b>Interacción Ax F</b>	435.00	282.39	0.65	1.04	1.1418	1.2060	NS
<b>Error</b>	958.00	599.09	<b>0.63</b>				
<b>Total</b>	1439.00	2723.30					

C.V = 35.33 %

Para clasificar las diferencias de severidad entre accesiones, evidenciadas en el análisis estadístico, se aplicó la prueba de Tukey a los promedios de severidad expresados por cada accesión (cuadro 3.3).

✓ En cuanto a las áreas de exposición o bloques se determinó que el campo de prueba de infección resultó heterogéneo. Observándose mayor llegada del inóculo desde la zona oeste del campo; de este modo el bloque III fue el

mejor indicador del comportamiento de las accesiones ante *Cercospora sp.* Como se indicó anteriormente, la disposición y la cercanía a la fuente de inóculo en el campo de San Luis fue importante para la prueba de susceptibilidad (AGRIOS, 2005).

- ✓ Según la prueba de Tukey las accesiones difieren con alta significación en sus respuestas a las infecciones por *Cercospora sp.*, estableciéndose un orden de susceptibilidad decreciente; esta información permitió agrupar a las accesiones por sus grados de severidad en cuatro modalidades: promotoras de infección, retardadoras de infección menos activas, retardadoras de infección más activas e inhibidoras de infección (BARRANTES, 1998).
- ✓ No fue necesario efectuar la prueba de Tukey en las fechas por la diversidad de cultivares y de respuestas diferentes de infección a lo largo del año.
- ✓ La ausencia de interacción estadística ente accesiones y fechas indica que debido a que el 70% de las accesiones tuvo semejante expresión de severidad a lo largo del año, mientras que el 17% mostraron la mayor severidad y el 13% de accesiones no desarrollaron síntomas.

En el cuadro 3.3. se muestra el resultado de la prueba de Tukey para las diferencias de severidad promedio entre accesiones, que se utilizó para agrupar las accesiones de tuna según su respuesta de severidad a la cercosporiosis (Cuadro 3.4).

**Cuadro 3.3.** Porcentaje de severidad de Cercosporiosis en 30 accesiones de tuna, bajo la prueba de Tukey (0.05).

Accesión	Prom.	T.0.05	
P5	30.30	a	<b>PROMOTORAS</b>
P29	16.81	b	
P17	12.71	c	
P22	11.93	d e	
P30	9.38	e	
P1	9.01	f	<b>RETARDADORAS MENOS ACTIVAS</b>
P19	7.90	f	
P2	7.09	g	
P6	6.19	g h	
P15	6.16	g h	
P16	6.04	g h	
P4	5.97	g h i	
P18	5.69	h i	
P3	5.59	i j	
P11	5.19	j	
P14	4.84	k	<b>RETARDADORAS MÁS ACTIVAS</b>
P8	3.53	k	
P12	3.44	k l	
P24	3.22	l m	
P7	2.81	m n	
P13	2.50	n	
P9	2.22	n	
P10	2.19	n	
P25	2.13	n	
P23	2.00	n	
P26	1.94	o	
P21	0.25	o	<b>INHIBIDORAS</b>
P20	0.00	o	
P27	0.00	o	
P28	0.00	o	

Se ha clasificado las respuestas de las accesiones en tres categorías epifitológicas: promotoras (cinco accesiones), retardadoras menos activas (10 accesiones), retardadoras más activas (11 accesiones) e inhibidoras (cuatro accesiones) de la infección y desarrollo de la enfermedad (cuadro 3.4), de acuerdo a la propuesta de investigación epifitológica de enfermedades de la tuna por BARRANTES (2014)

La agrupación se fundamenta en la capacidad de las accesiones de promover o limitar el desarrollo de infecciones en las pencas a lo largo del año; esto se justifica por el hecho de haber expuesto las pencas evaluadas a fuentes significativas de inóculo en diferentes posiciones dentro del área de crecimiento de las pencas abastecedoras de inóculo.

**Cuadro 3.4.** Respuesta epifitológica de las accesiones a las infecciones naturales por *Cercospora sp.*

PROMOTORAS		RETARDADORAS				INHIBIDORAS	
Accesión	Índice Severidad	MENOS ACTIVAS		MAS ACTIVAS		Índice Severidad	Índice Severidad
		Accesión	Índice Severidad	Accesión	Índice Severidad		
P5	30.30	P1	9.01	P14	4.84	P21	0.25
P29	16.81	P19	7.90	P8	3.53	P20	0.00
P17	12.71	P2	7.09	P12	3.44	P27	0.00
P22	11.93	P6	6.19	P24	3.22	P28	0.00
P30	9.38	P15	6.16	P7	2.81		
		P16	6.04	P13	2.50		
		P4	5.97	P9	2.22		
		P18	5.69	P10	2.19		
		P3	5.59	P25	2.13		
		P11	5.19	P23	2.00		
				P26	1.94		

A partir de los Cuadros 3.3 y 3.4 se evidencia que un gran grupo de accesiones (70%) de tuna muestran una capacidad de alta tolerancia a la infección de campo (condiciones naturales). Debido a la clasificación de accesiones, sobre la base del promedio de infección anual, y no del resultado final de infección después de un año de exposición al inóculo, la separación en grupos no expresa la parte real de la respuesta, pero se ajusta a la diferenciación de la prueba estadística de promedios. Sin embargo, la tendencia estadística de severidad se acerca lo suficiente a la realidad de campo como para mantener esta clasificación para fines de discusión estadística.

**1. Accesiones promotoras.** Es el grupo con mayor desarrollo de cercosporiosis, que en la prueba de Tukey representan las accesiones que promovieron mayor infección en las pencas, diferenciándose con alta significación de los otros grupos de accesiones. La infección al final del año fue de 62.83% (P5), 33.5% (P29), 20.67% (P17 y P22) y 24.17% (P30).

Aunque la prueba estadística no permita incluir a otras accesiones que también muestran susceptibilidad significativa, es necesario indicar que al Grupo de Promotoras de la cercosporiosis se deben incorporar a las accesiones P1 y P19 que expresaron 24.17% de severidad, porque están consideradas en el Grupo Retardadoras menos activas. Este grupo es un clásico ejemplo de las especies y cultivares susceptibles que no tienen genes de resistencia (CHESSA et al., 2002).

**2. Accesiones retardadoras menos activas.** De acuerdo a la prueba de Tukey, entre las accesiones retardadoras menos activa no se detectó diferencias estadísticas significativas entre las severidades de infección por cercosporiosis, es decir se comportan como de tolerancia semejante. Es

probable que en estas accesiones ocurra algún nivel de balance nutricional entre el hospedante y el parásito, que les permite expresar tolerancia aceptable ante la cercosporiosis (CHESSA et al., 2002). Sin embargo, puede suceder que algunas de estas accesiones muestren mayor grado de severidad cuando se cultiven en condiciones de más predisposición al inóculo o condiciones atmosféricas favorables para las infecciones.

**3. Accesiones retardadoras más activas.** En este grupo ocurre algo semejante, excepto que las accesiones P23 y P26 tienen tendencia de campo para expresar mucha mayor tolerancia que las demás de su grupo. En estas accesiones ocurre un balance nutricional favorable al hospedante que limita al parásito, expresándose una alta tolerancia a la cercosporiosis (AGRIOS, 2005). En este grupo existe la posibilidad de que las accesiones puedan expresar mucho menor grado de severidad cuando se las evalúe en condiciones con presión de inóculo, porque se han manifestado potencialmente como de alta tolerancia.

**4. Accesiones inhibitoras.** En este grupo están consideradas cuatro accesiones que no desarrollaron infecciones durante el año de evaluación. La probabilidad de que su capacidad de resistencia o alta tolerancia es cierta, puede comprobarse comparándolas con las accesiones promotoras de infección P5, P29, P1, P22 y P30, con las cuales tuvieron las mismas oportunidades de infección (diseño experimental randomizado). Estas cualidades son evidencia de la existencia de genes de resistencia que promueven un desbalance nutricional que evita el establecimiento del parásito (BATEMAN, 1978), y que persisten en las poblaciones con alta variabilidad (PINKAVA et al., 2002), como es el caso de la gran cantidad de

cultivares de tuna que existen en la región Ayacucho. Es evidente que las diferencias de severidad entre estos cuatro grupos son altamente significativas.

### **Relaciones entre la susceptibilidad o resistencia y el tiempo de exposición al inóculo.**

La exposición de las 30 accesiones, a través de sus pencas, a la inoculación natural por esporas de *Cercospora sp.*, que afecta a la tuna, tuvo dos características epifitológicas importantes (DAY, 1978) para medir la susceptibilidad de las accesiones: la extensión del periodo de infección a cuatro estaciones climáticas anuales y la libre disposición de esporas de *Cercospora* que producen las plantas fuente de inóculo durante el año en condiciones naturales.

Durante las observaciones de sintomatología y registro de severidad, se pudo constatar que a mayor tiempo de exposición de las accesiones a la inoculación al azar, las pencas podrían desarrollar más infecciones, es decir, para poder comprobar que la cercosporiosis es una enfermedad policíclica anual (BARRANTES, 1998).

Sin embargo, la exposición continua de las pencas a las infecciones no ha significado igual desarrollo de la sintomatología o presencia de lesiones; esto se debe a la desigual respuesta de las accesiones a la presencia del patógeno en los tejidos durante todo el periodo de evaluación debido probablemente a su significativa diversidad genética (QUEROL, 1998).

Algunas lesiones avanzaron hasta completar todas las Fases de desarrollo biológico e infectivo de *Cercospora sp.*, es decir cumplieron el ciclo desde germinación hasta reproducción. Muchas lesiones no completaron su

transformación estructural quedándose en fases intermedias; esto hace suponer que al mantenerse en iguales condiciones de exposición al inóculo, durante cerca de un año, las accesiones mostraron su capacidad de campo para comportarse como promotoras de infecciones, retardadoras o inhibidoras, que debe tener una determinada base genética.

Se considera que el incremento de la enfermedad, en estas pencas, continuará hasta que alcancen mayoría de edad (3 años), pues se ha observado en el trabajo de GOMEZ (2003), que pencas mayores a 3 años ya no desarrollan nuevas lesiones, es decir no se predisponen a facilitar las infecciones de manera permanente, sino en forma restringida.

La aparición de las lesiones ocurrió después de dos meses de instalado el experimento, en razón a la espera de llegada del inóculo a las pencas, el tiempo de incubación del patógeno en el parénquima antes de iniciar la infección y algunas condiciones de humedad en las pencas para que ocurra la germinación de conidias. Según GÓMEZ (2003), el cambio de la Fase I a la Fase VI de la cercosporiosis, dura en promedio 4.8 meses, en tres lugares de Huanta: San Luis, Quinrapa y Esmeralda.

#### **Índice de severidad en las accesiones al finalizar el periodo anual de evaluación.**

De acuerdo a la evolución de la cercosporiosis a lo largo del año, se observó respuestas ampliamente diferentes en las accesiones en el desarrollo de la sintomatología al finalizar el periodo anual de evaluación (Gráfico 3.6). Se registró 11 accesiones (P6, P16, P17, P22, P4, P15, P1, P19, P30, P29 y P5) en las cuales el Índice de Severidad fue altamente significativo (rango 14.0 – 62.83%), respecto a otras 9 (P11, P7, P8, P9, P18, P24, P2, P3 y P14) de

mediana susceptibilidad (rango 9.0 - 12.5%) y 10 (P20, P27, P28, P21, P26, P10, P23, P25, P12 y P13) accesiones con mayor resistencia y de alta tolerancia (rango 0.0 – 6%).

La última fecha de evaluación (primera semana de setiembre 2014) es el indicador, y al mismo tiempo resumen, lo acontecido en forma natural en el campo de prueba de susceptibilidad (DAY, 1978; BATEMAN, 1978). Estos índices son producto de la respuesta de las accesiones a las infecciones ocurridas al azar, como sucede normalmente en las plantaciones naturales de tuna. Es decir, una respuesta de susceptibilidad, tolerancia o resistencia bajo la sumatoria de influencias genéticas y ambientales (DAY, 1978); por ello, este valor final es de gran utilidad para conocer, valorar y decidir sobre las capacidades epifitológicas de las accesiones ante la cercosporiosis.

Resulta evidente la alta susceptibilidad de las accesiones P5 y P29, así como la alta resistencia en P20, P27, P28, P21 y P26. Es importante además, resaltar un grupo grande de accesiones (P10, P23, P25, P12, P13, P11, P7, P8, P9, P18, P24, P2, P3 y P14) con buena tolerancia a la cercosporiosis, así como un grupo de ocho accesiones potencialmente susceptibles o de buena tolerancia (P4, P15, P16, P17, P22, P1, P19 y P30) según sea favorable o desfavorable las condiciones atmosféricas.

Respecto a la potencialidad de resistencia o alta tolerancia, el **grupo A** requiere de comprobación de sus respuestas en otras condiciones donde se supone que existen otras expresiones atmosféricas y probablemente razas diferentes de *Cercospora*, en este caso las provincias de Cangallo, Fajardo, Lucanas y la provincia de Tayacaja donde se encuentra Churcampa (BARRANTES, 1998).

El **grupo B** muestra una tendencia a incluirse en el **grupo C**, por su susceptibilidad, que por una u otra razón, no se mostró significativa en la zona San Luis de Huanta; sin embargo, epifitológicamente podría ser un grupo con verdadera capacidad de retardar o limitar las infecciones y que tal expresión se confirmaría en otros lugares. Sin embargo, el **grupo B** también podría participar como una potencial fuente de inóculo, para cultivares susceptibles, sin manifestar daños significativos en su crecimiento y producción, lo cual constituye un factor epifitológico de riesgo en condiciones naturales.

El **grupo C** ha evidenciado en Huanta su susceptibilidad a la cercosporiosis, probablemente por dificultades genéticas de resistencia o alta tolerancia que no las tiene el **grupo A**.



### **Evolución de la sintomatología de cercosporiosis durante el periodo de evaluación de severidad.**

Para las condiciones de San Luis de Huanta, se plantea una tendencia de evolución de la cercosporiosis considerando el promedio de la variabilidad de respuestas de severidad durante 10 meses de evaluación. Al promediar los valores de 30 accesiones, se midió la evolución promedio de la cercosporiosis; la línea de valores expresada en el Grafico 3.7, observándose que aún cuando existe una mezcla de resistencia y susceptibilidad, la tendencia de la curva es ascendente, mostrándose lineal en el periodo de evaluación.

Esta expresión indica que la cercosporiosis es una enfermedad policíclica, pero con variación en su duración; a diferencia de una enfermedad policíclica que afecta a una planta herbácea de periodo de crecimiento corto (3 – 6 meses) y que ocurre de manera más rápida, pudiendo el parásito reproducirse varias veces en el mismo periodo, en la tuna el parásito *Cercospora* no tiene oportunidad de mayores infecciones en la misma temporada, porque su ciclo biológico se cumple en un largo periodo (4.8 meses, GOMEZ, 2003). Planteado de este modo, la cercosporiosis de la tuna es una enfermedad policíclica anual (el factor limitante es la reproducción del parasito y las reinfecciones).

Esta característica es favorable para las relaciones entre el hospedante y el parásito, tanto para limitar las superficies afectadas como para la supervivencia del patógeno en determinadas condiciones ambientales (MONDRAGON et al., 2010). Sin embargo, la susceptibilidad de algunas variedades de tuna puede ocasionar gran severidad y muchas pencas afectadas.

Por ello, las accesiones que muestran susceptibilidad significativa (promotoras) brindan las condiciones nutritivas y estructurales más favorables para el

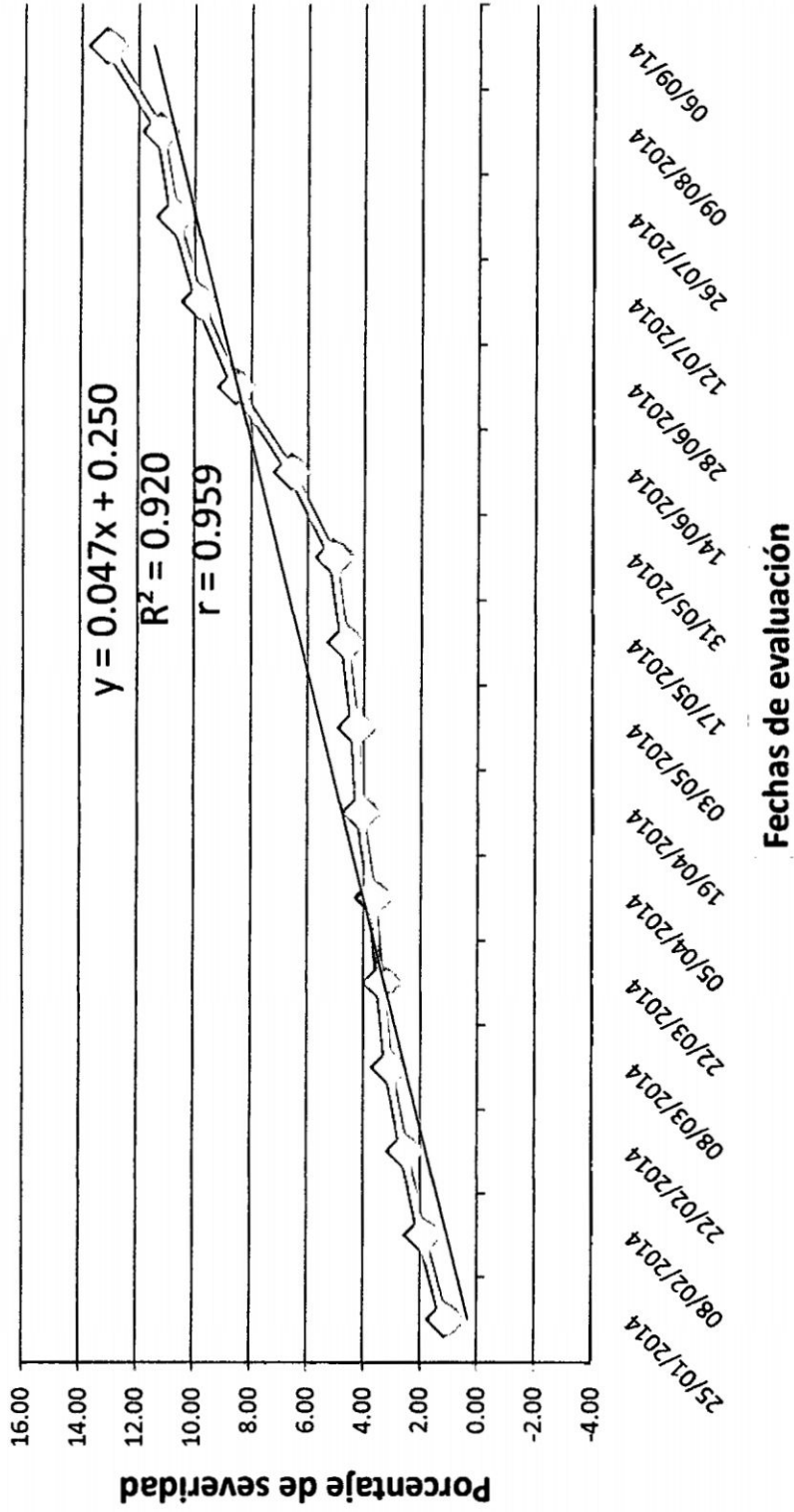
establecimiento y desarrollo de la cercosporiosis en un periodo largo mostrándose como monocíclica con un o dos ciclos de reproducción del parásito en las pencas.

La tendencia promedio de la cercosporiosis muestra que la enfermedad disminuye entre los meses de abril, mayo y junio, debido a la disminución de humedad sobre las pencas y en la atmósfera, y por anularse la propagación de esporas del hongo en estos meses de otoño e invierno (BARRANTES, 1998). Posteriormente, al aumentar la humedad (lluvias) y la temperatura entre agosto y setiembre, las infecciones se reinician y la curva se eleva ligeramente.

En estas condiciones, las lesiones no llegan a completar su evolución y muchas no permiten que el hongo se reproduzca, permaneciendo latentes o se anulan en forma permanente.

GOMEZ (2003) reportó que de 50 lesiones evaluadas, 11 llegaron a completar su ciclo a *Cercospora*(22.2%) y 12 cambiaron a *Didymosphaeria*(74%); y 27 lesiones no completaron su desarrollo, permaneciendo como zonas necróticas en los cladodios (58.8%). Esta característica también se observó en las accesiones instaladas en San Luis; muchas lesiones se demoraron desde marzo hasta junio (3 meses) para mostrarse como cercosporiosis; por ello, en las últimas fechas de evaluación el porcentaje de severidad se incrementó considerablemente. Esta observación explica porque la cercosporiosis tiene amplia presencia en las épocas de lluvias y cuando aumentó la temperatura y la humedad sobre las pencas (BARRANTES, 1998).

### CURVA DE LA EVOLUCIÓN ANUAL DEL INDICE PROMEDIO DE SEVERIDAD DE LA CERCOSPORIOSIS

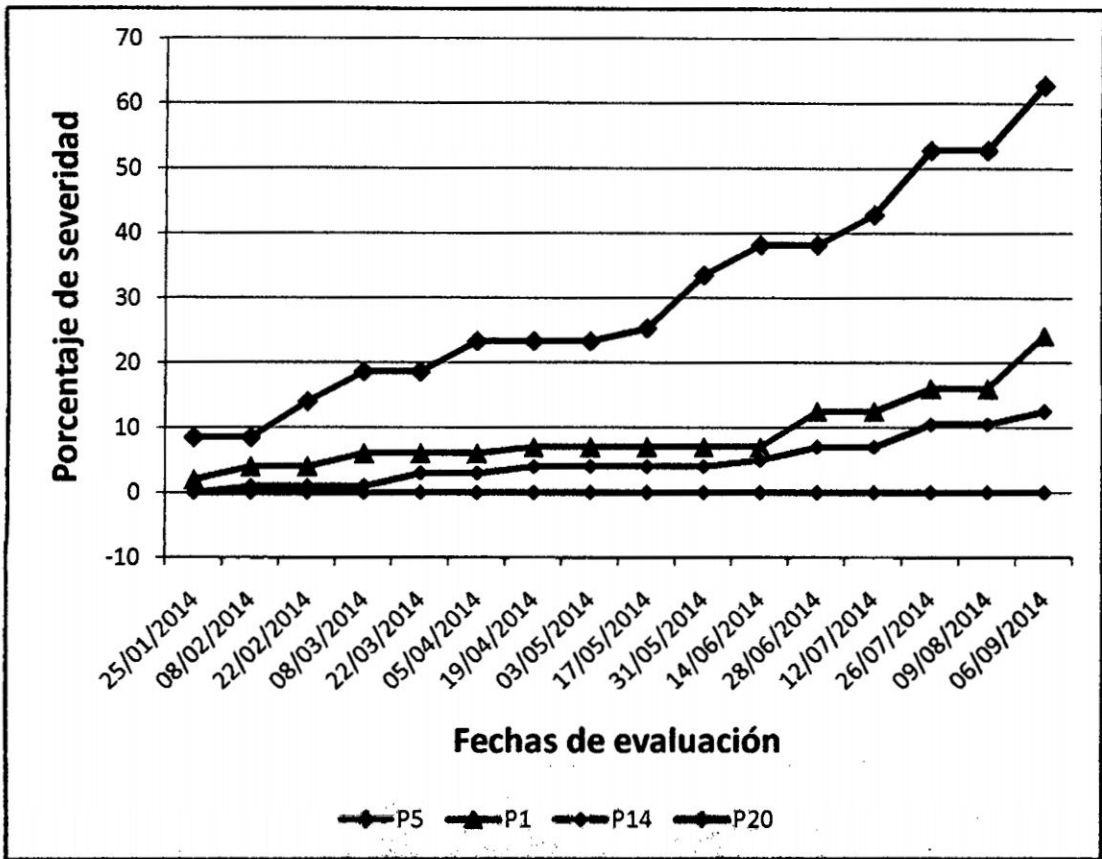


**Gráfico 3.7.** Tendencia promedio de la evolución de la cercosporiosis en accesiones de tuna en San Luis, Huanta, durante 16 fechas de evaluación.

Las tendencias seleccionadas de cercosporiosis que se observan en el Gráfico 3.8 son las evidencias de campo del comportamiento diferenciado de las accesiones, que inducen a modificar, limitar o anular el ciclo biológico de *Cercospora* en los tejidos de la penca debido a la amplia variabilidad en su habilidad de tolerancia (BRAVO-HOLLIS et al., 1991)

El cultivar susceptible (P5) muestra la tendencia natural de la cercosporiosis en praderas y montes naturales de tuna en Ayacucho, así como los cultivares de alta tolerancia P1 y P14 representan un amplio grupo de cultivares nativos del germoplasma regional de tuna que limitan favorablemente la reproducción de *Cercospora*, pero sin evitar la disminución de inóculo en el ambiente.

Los cultivares resistentes, representados por la accesión P20 (*Opuntia ficus indica* Mill.) es el caso extremo de anulación o limitación máxima del establecimiento del patógeno en las pencas; esto no significa que la expresión sea totalmente cierta, puesto que existe dependencia de otras condiciones. Lo importante es que siendo la cercosporiosis normalmente una enfermedad policíclica, las características estructurales y genéticas de las tunas condicionan que esta enfermedad se comporte como monocíclica a lo largo de las estaciones anuales.



**Gráfico 3.8.** Tendencias de evolución de la cercosporiosis en cuatro accesiones seleccionadas por su susceptibilidad, alta tolerancia o resistencia.

**Distribución de frecuencia de la severidad de infección por cercosporiosis en 30 accesiones de tuna.**

La evaluación de la severidad en las accesiones de tuna dio como resultado la posibilidad de descubrir que existe diversidad de comportamiento de esta especie ante las infecciones por *Cercospora sp.*, en condiciones de campo. En razón a ello, fue necesario incluir una proyección preliminar de agrupamiento de las accesiones según su respuesta ante las infecciones.

En el cuadro 3.6 se resume la información de la agrupación de accesiones, sobre la base del cuadro 3.5, que a su vez que ha permitido elaborar el Gráfico 3.9 que muestra la expresión final de severidad de las accesiones por infecciones causadas por *Cercospora sp.*



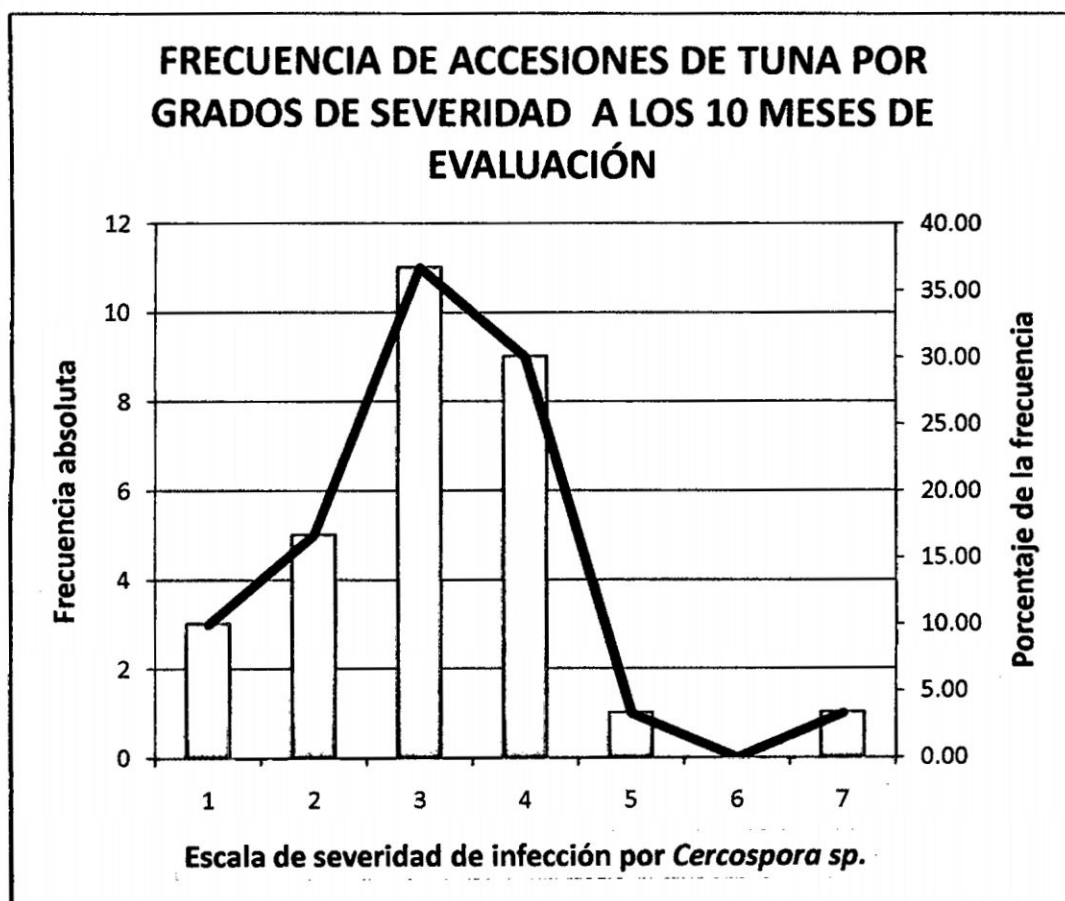
**Cuadro 3.6.** Cálculo de la distribución de frecuencia de accesiones según sus grados de infección por *Cercospora sp.*, en pencas.

Intervalo	Grado de severidad	Frecuencia absoluta	Frecuencia absoluta acumulada	Frecuencia relativa	Frecuencia relativa acumulada	Frecuencia relativa %	Frecuencia relativa % acumulada
0.00 0.00	1	3	3	0.10	0.10	10.00	10.00
1.00 5.00	2	5	8	0.17	0.27	16.67	26.67
6.00 12.00	3	11	19	0.37	0.63	<b>36.67</b>	63.33
13.00 26.00	4	9	28	0.30	0.93	<b>30.00</b>	93.33
27.00 40.00	5	1	29	0.03	0.97	3.33	96.67
41.00 54.00	6	0	29	0.00	0.97	0.00	96.67
55.00 100.00	7	1	30	0.03	1.00	3.33	100.00
		<b>30</b>		<b>1</b>		<b>100</b>	

De acuerdo a esta distribución se determinó que el 66.67% de las accesiones de tuna tuvieron un índice de severidad entre 6 y 26% de superficie afectada por cladodio. En este grupo se hallan las accesiones que muestran un potencial de alta tolerancia, pero al mismo tiempo con potencial para mantener la presencia de inóculo que podrá afectar a los cultivares susceptibles en condiciones naturales o de cultivo (HAMMERSCHMIDT et al., 2000).

También se pudo determinar que la distribución de susceptibilidad de las accesiones de tuna ante la cercosporiosis sigue una tendencia normal de distribución.

De este análisis se concluye que la existencia de diversidad de cultivares de tuna en las regiones de Ayacucho, Huancavelica y Apurímac constituye la base de permanencia del parásito *Cercospora sp.*, y de sus posibilidad de generar razas del parásito (BARRANTES, 1998), pero con pocas posibilidades de encontrarse genes efectivos de resistencia por la baja frecuencia de accesiones que muestran esta cualidad; según nuestro estudio el porcentaje de resistencia en *Opuntia ficus indica* Mill es de 3.3%.



**Grafico 3.9.** Representación de la distribución de frecuencia de accesiones de tuna según la severidad de infección en cladodios por *Cercospora sp.* a los 10 meses de evaluación.

## **3.2. CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE CLADODIOS Y PLANTA ENTERA DE 30 ACCESIONES DE TUNA.**

### **3.2.1. Análisis de Agrupamiento.**

Considerando los 28 caracteres descritos para las pencas y la planta entera se organizó una matriz básica (Cuadro 3.7) de caracterización morfológica y agronómica (dendograma) para las 30 accesiones de tuna (*Opuntia sp.*), consideradas en la investigación de resistencia y susceptibilidad a la cercosporiosis.

En el dendograma (Gráfico 3.10), el análisis de agrupamiento de los conglomerados, permitió la formación de seis grupos de accesiones diferentes, que se denominarán Morfotipos, que expresan alta variabilidad en sus características morfológicas (PAINTING, 1993; LEÓN, 2000) refiere que la variabilidad de tunas cultivadas es el resultado de las mismas fuerzas que operan sobre las poblaciones silvestres, pero afectadas por la acción del hombre. (MONDRAGÓN, 2001)

UZUN (1996); indica que el género *Opuntia* tiene bastante variabilidad en sus caracteres básicos, que se deben considerar en estudios de caracterización morfológica (BOX, 2005; GUILLOT et al., 2008). De igual modo CHESSA (2010) considera que el conocimiento de la diversidad genética es una herramienta útil en la gestión de bancos genéticos.

GRUPOS ESTABLECIDOS EN EL DENDOGRAMA	ACCESIONES
MORFOTIPO 1	P15, P10, P16, P14, P26 y P13
MORFOTIPO 2	P12, P2, P22, P19, P23
MORFOTIPO 3	P20, P11, P7, P8, P30, P21 y P24
MORFOTIPO 4	P6, P5, P29, P4, P3, P18, P9 y P17
MORFOTIPO 5	P28, P27 y P25
MORFOTIPO 6	P1

El **Morfotipo 1** (seis accesiones) incluye al 20% del total de las accesiones evaluadas; son plantas de vigor alto e intermedio, de tamaño grande, hábito de crecimiento extendido e intermedio con alternancia de fructificación presente. Los cladodios son aovados y elípticos, con un rango de longitud de 38 - 57 cm y un rango de ancho promedios de 20 – 26 cm, de color verde amarillo oscuro y conescasas espinas de color blanco.

El **Morfotipo 2** (cinco accesiones) representa al 16.67 % de las accesiones; son plantas de vigor intermedio y alto, tamaño grande y mediano, hábito de crecimiento arbustivo, alternancia de fructificación presente y ausente, con cladodios elípticos acuminados en su mayoría, con rangosa de longitudes 26 – 44 cm y ancho de 17 – 22 cm, de color verde claro y oscuro; no todas las accesiones presentan espinas.

El **Morfotipo 3** (siete accesiones) representa el 20.33 % de las accesiones; son plantas de vigor intermedio y alto, tamaño mediano, hábito de crecimiento extendido y arbustivo, alternancia de fructificación presente; con cladodios de forma elíptica y aovada; longitud 30 – 47 cm, ancho 16 – 30 cm, de color verde oscuro y amarillo, con muchas espinas.

El **Morfotipo 4** (ocho accesiones) representa el 20.67% de las accesiones; son plantas de vigor bajo y alto, tamaño grande y pequeño, hábito de crecimiento arbustivo, alternancia de fructificación presente; cladodios de forma lanceolada y elíptica; longitud 32 – 68 cm; anchos 18 - 24 cm, de color verde amarillo y oscuro, con ausencia de espinas.

El **Morfotipo 5** (tres accesiones) representa el 10% de las accesiones; son plantas de vigor alto, tamaño grande, hábito de crecimiento intermedio, con cladodios redondos, de longitud 21 – 36 cm, ancho 26 – 28 cm, de color verde azulado, con ausencia de espinas. Esta información coincide con la descripción de la especie *Opuntia robusta* (GONZALES, 2001).

El **Morfotipo 6** (una sola accesión) representa el 3.3% de las accesiones; son planta de vigor alto, tamaño grande, hábito de crecimiento arbustivo; con cladodios aovados de longitud 39 cm y ancho 23 cm, de color verde claro, con ausencia de espinas.

Todas las descripciones de los Morfotipos 1, 2, 3, 4 y 6 corresponden a *Opuntia ficus-indica* Mill. (GONZALES, 2001).

En la evaluación de las 30 accesiones se consideraron 23 caracteres de cladodio y cinco para la planta, considerando que no existieron frutos para completar la información. De acuerdo al trabajo de QUISPE (2003) que estudió 86 caracteres, solamente se incluyeron 7 caracteres de mayor influencia en la variación (ancho del cladodio, cladodio ceroso, longitud de gloquídeas, diámetro de espinas, longitud de espinas marginales, color de gloquídeas, cantidad de espinas). Es probable que esta limitación en el número de caracteres considerados, haya inducido a establecer pocos grupos o morfotipos de accesiones, los cuales muestran tener mucho en común.

**Cuadro 3.7. Matriz básica de 28 caracteres de cladodio y planta de 30 accesiones de tuna.**

COLECCIÓN	PLANTA														CLADODIO														
	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	2.13	2.14	2.15	2.16	2.17	2.18	2.19	2.20	2.21	2.22	2.23	2.24	2.25	2.26	2.27	
	3	3	2	1	5	1	39	24	34	23	22	1.64	5	1	24	5	1	1	1	3	1	1	98	0.8	0.2	0.1	5	1	1
P1	3	3	2	1	5	1	39	24	34	23	22	1.64	5	1	24	5	1	1	1	3	1	1	98	0.8	0.2	0.1	5	1	1
P2	3	3	2	1	5	6	44	21	36	25	22	2.07	5	1	18	3	1	2	1	1	1	1	116	1.0	0.2	0.1	1	1	1
P3	3	3	1	1	5	6	40	23	39	26	24	1.77	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	122	0.9	0.2	0.1	3	0	2
P4	2	3	2	1	5	6	41	21	31	23	19	1.95	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	132	1.0	0.2	0.1	1	0	3
P5	1	2	3	1	1	7	68	24	47	37	29	2.89	4	0	0	0	0	0	3	2	2	2	170	0.8	0.2	0.1	5	0	3
P6	1	1	3	1	2	1	43	20	35	27	25	2.09	4	0	0	0	0	0	3	1	2	2	118	0.9	0.2	0.1	1	0	2
P7	2	2	2	1	2	3	47	21	33	25	18	2.22	4	3	39	9	6	1	2	2	1	1	126	1.0	0.2	0.1	1	3	2
P8	2	2	2	1	5	1	36	26	39	32	23	1.40	2	2	32	9	4	4	1	2	1	1	128	1.0	0.3	0.2	1	3	1
P9	2	3	3	1	6	1	33	18	27	22	19	1.81	5	0	0	0	0	0	4	1	2	2	118	0.9	0.2	0.1	1	0	2
P10	2	1	2	1	3	1	45	23	39	31	28	1.93	4	1	20	5	2	1	3	2	1	1	126	0.9	0.2	0.1	1	0	1
P11	2	1	1	1	3	1	35	24	45	26	22	1.46	5	3	45	9	7	4	2	1	2	2	134	0.8	0.2	0.1	3	3	1
P12	2	3	1	1	5	6	35	21	30	16	14	1.63	5	1	18	5	1	1	2	1	3	3	114	0.8	0.2	0.1	1	1	1
P13	2	3	1	1	3	1	43	25	21	16	15	1.76	2	1	19	5	1	1	3	2	2	2	120	0.7	0.2	0.1	3	1	1
P14	3	3	2	1	3	1	38	21	47	37	34	1.84	5	1	20	4	1	1	4	1	1	1	136	0.7	0.2	0.1	5	1	1
P15	3	3	2	1	2	3	46	26	43	30	26	1.74	4	1	17	5	1	1	1	1	1	1	126	0.8	0.2	0.1	1	1	1
P16	3	3	1	1	2	3	45	28	39	25	24	1.58	2	1	21	5	1	1	3	1	2	2	140	0.8	0.2	0.1	3	1	2
P17	3	3	1	1	2	1	35	18	50	44	24	1.96	4	0	0	0	0	0	1	1	2	2	126	0.8	0.2	0.1	3	0	1
P18	2	1	1	1	4	7	53	15	34	24	20	3.63	4	0	0	0	0	0	2	1	3	3	134	0.8	0.3	0.2	1	1	3
P19	2	2	2	1	3	5	26	18	36	22	20	1.44	4	1	21	9	1	2	1	2	3	3	128	0.9	0.2	0.1	1	2	1
P20	3	2	1	1	5	1	31	16	41	27	24	1.90	4	3	45	9	6	1	2	3	2	2	100	0.9	0.2	0.1	3	3	1
P21	3	2	2	1	2	6	29	21	30	21	16	1.36	5	3	35	5	4	3	1	1	1	1	110	1.1	0.3	0.2	3	3	3
P22	3	3	3	1	6	7	44	17	34	24	15	2.55	5	1	25	5	3	2	2	2	2	2	92	0.7	0.3	0.1	1	1	2
P23	3	3	3	1	6	3	31	30	37	26	17	1.03	4	1	15	5	3	1	2	3	3	3	110	1.0	0.3	0.1	3	1	2
P24	3	3	1	0	5	1	35	22	30	24	23	1.57	3	2	36	9	2	1	4	3	3	3	104	1.1	0.2	0.1	5	2	2
P25	2	1	2	1	4	2	36	28	55	39	34	1.28	3	0	0	0	0	0	4	3	3	3	100	0.9	0.2	0.1	3	0	1
P26	3	3	1	0	1	7	58	21	45	38	33	2.74	4	1	28	6	1	2	2	3	2	2	140	0.9	0.2	0.1	3	1	1
P27	3	3	2	1	2	2	27	27	43	38	35	1.03	1	0	0	0	0	0	3	1	2	2	78	0.7	0.3	0.2	1	0	3
P28	3	2	2	1	2	4	21	28	48	40	37	0.77	1	0	0	0	0	0	3	1	2	2	80	1.0	0.3	0.2	1	0	3
P29	3	3	1	1	1	1	39	21	33	26	22	1.88	4	0	0	0	0	0	1	3	2	2	128	1.0	0.2	0.2	1	1	2
P30	3	3	1	1	3	6	31	18	27	21	18	1.74	4	2	42	10	3	3	1	1	2	2	112	0.8	0.2	0.1	1	2	2

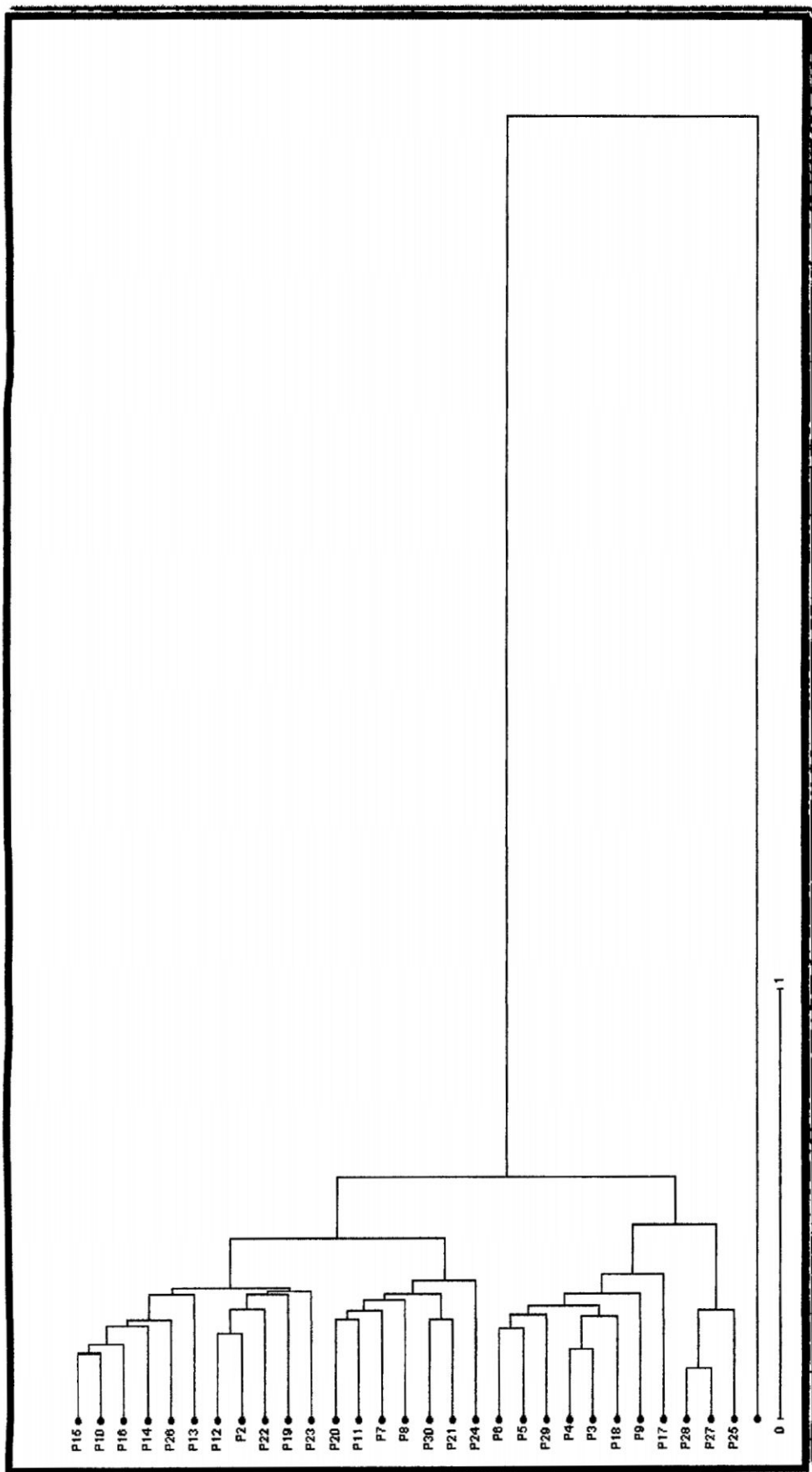


Gráfico 3.10. Dendrograma de 30 accesiones de tuna sobre la base de 28 caracteres de cladodio y planta.

### **3.3. AISLAMIENTO DEL PATÓGENO DE LA CERCOSPORIOSIS.**

La investigación planteó la posibilidad de reproducir al patógeno *Cercospora sp.*, de las lesiones de cercosporiosis, mediante cultivo de tejidos enfermos en medios nutritivos para obtener esporas y realizar inoculaciones artificiales en condiciones de invernadero.

Para ello, se utilizaron pencas enfermas y procedimientos de laboratorio considerándose antecedentes de trabajos de aislamiento del patógeno *Pseudocercospora opuntiae* en México y Argentina (QUEZADA et al., 2006 y Ochoa, M, 2012); *Cercospora zea-maydis* (PAUL et al., 2005; BEKMAN et al., 1983); *Cercospora kikuchii* (VATHAKOS et al., 1979); y *Cercospora coffeicola* en Colombia (GUZMAN et al., 2005).

#### **3.3.1. Prueba de medios de cultivo.**

Para el aislamiento se utilizaron lesiones de distinto grado de evolución, teniendo en cuenta el trabajo de GOMEZ (2003), que propuso la existencia de seis fases de cambios en la forma y estructura de las lesiones de cercosporiosis. De igual manera se evaluaron ocho medios distintos en su composición sobre la base de las referencias DHINGRA y SINCLAIR (2003) y FRENCH (1985).

Se hicieron pruebas preliminares de cultivo con medios comunes para observar el comportamiento del hongo en su crecimiento y esporulación; posteriormente a los resultados, se efectuaron nuevos ingredientes en los medios que incluyeron micronutrientes minerales jugo de penca joven y adulta, además del antibiótico estreptomina.

Durante el uso de lesiones, se tuvo en cuenta que de éstas pueden originar dos tipos enfermedades: la cercosporiosis o la mancha plateada, pero también es

probable que ambos patógenos coexistan en la misma lesión (BARRANTES, 1998).

Durante las pruebas de medios y usando todos los tipos de lesiones, en los medios solamente se aislaba el hongo ascomiceto *Didymosphaeria sp.*, aún cuando se utilizaron porciones muy pequeñas de tejido enfermo así como seudotecios ascostromáticos individualizados.

La inclusión de jugo de penca joven y de microelementos minerales fue de mayor utilidad para promover el crecimiento de colonias en los medios; con esta mejora en los medios se continuó sin obtener micelio de *Cercospora sp.* La dificultad de aislar a *Cercospora* puede deberse a que este género involucra a parásitos biótrofos y que sus necesidades nutricionales dependen de relaciones muy dependientes de la bioquímica del hospedante, que no pueden lograrse fácilmente en un medio de cultivo (BARRANTES, 1998; DAY, 1978; BATEMAN, 1978).

A partir de las pruebas de medios y del uso de las diversas lesiones de cercosporiosis se determinó que en todas las lesiones, por lo menos la mayoría, se encuentran asociados los dos patógenos de mayor incidencia en las plantaciones naturales o cultivadas de tuna: *Cercospora sp.*, (causante de cercosporiosis) y *Didymosphaeria sp.*, (causante de mancha plateada).

Esta característica de asociación y de manifestación de los síntomas tiene su origen en la estructura de la epidermis cerosa de la tuna y de las habilidades hemibriótrofas y pertófitas de *Didymosphaeria*.

Se ha determinado que las esporas de ambos hongos cohabitan de manera permanente en las grandes aberturas estomáticas de la epidermis, que por dispersión anemófila logran establecerse en las superficies de las pencas. Al

encontrarse ambas esporas dentro de esta cavidad, la presencia de humedad facilita que ambas esporas germinen juntas y logren penetrar y establecerse en la misma zona de infección; *Cercospora* se establece como biótrofo y *Didymosphaeria* como hemibiótrofo peritófico. De este modo, al utilizarse una porción de tejido de la lesión, el hongo *Didymosphaeria* crece con mayor facilidad que *Cercospora*.

### **3.3.2. Diagnóstico del patógeno y características estructurales del micelio.**

A partir del crecimiento de las colonias y de la presencia de estructuras reproductivas producidas, se efectuó el diagnóstico del hongo obtenido por aislamiento. Los medio Agar-Tuna cladodio joven-Sucrosa y Agar-Tuna cladodio joven-Sucrosa-Microelementos (Gráficos 3.11, 3.12) favorecieron el crecimiento y la esporulación. En la prueba de crecimiento, el medio V8-Agar no tuvo la utilidad para la esporulación que sí se logró para *Cercosporalongissima* (SCHEFFER, 1969). De igual modo, QUEZADA et al. (2006) lograron el cultivo apropiado de *Pseudocercospora opuntiae* utilizando el medio Nopal-Agar (NA).

Las observaciones microscópicas del micelio del aislamiento en los diversos medios, evidenció la presencia del hongo ascomiceto *Didymosphaeria* sp. Que produce seutotecio sascostromáticos, redondeados, solitarios, con ostiolo a la madurez, seudoparafisis trabeculadas, de 510.24 - 552.76  $\mu$  diámetro; ascas no operculadas, unitunicadas, 170.95 – 189.36  $\mu$  de largo, con 8 ascosporas bicelulares distoseptadas, de color marrón pardo, 23.67 – 26.80  $\mu$  de largo y 10.52 – 13.15  $\mu$  de ancho. Estas características estructurales también han sido reportadas por GOMEZ (2003).

Las limitaciones y dificultades para el aislamiento de *Cercospora* de las lesiones, permiten mantener muchas incógnitas o dudas sobre las relaciones fisiológicas y ontogénicas entre *Cercospora* y *Didymosphaeria* en el desarrollo de la sintomatología, como parásitos de la tuna, que deberán continuar investigándose.

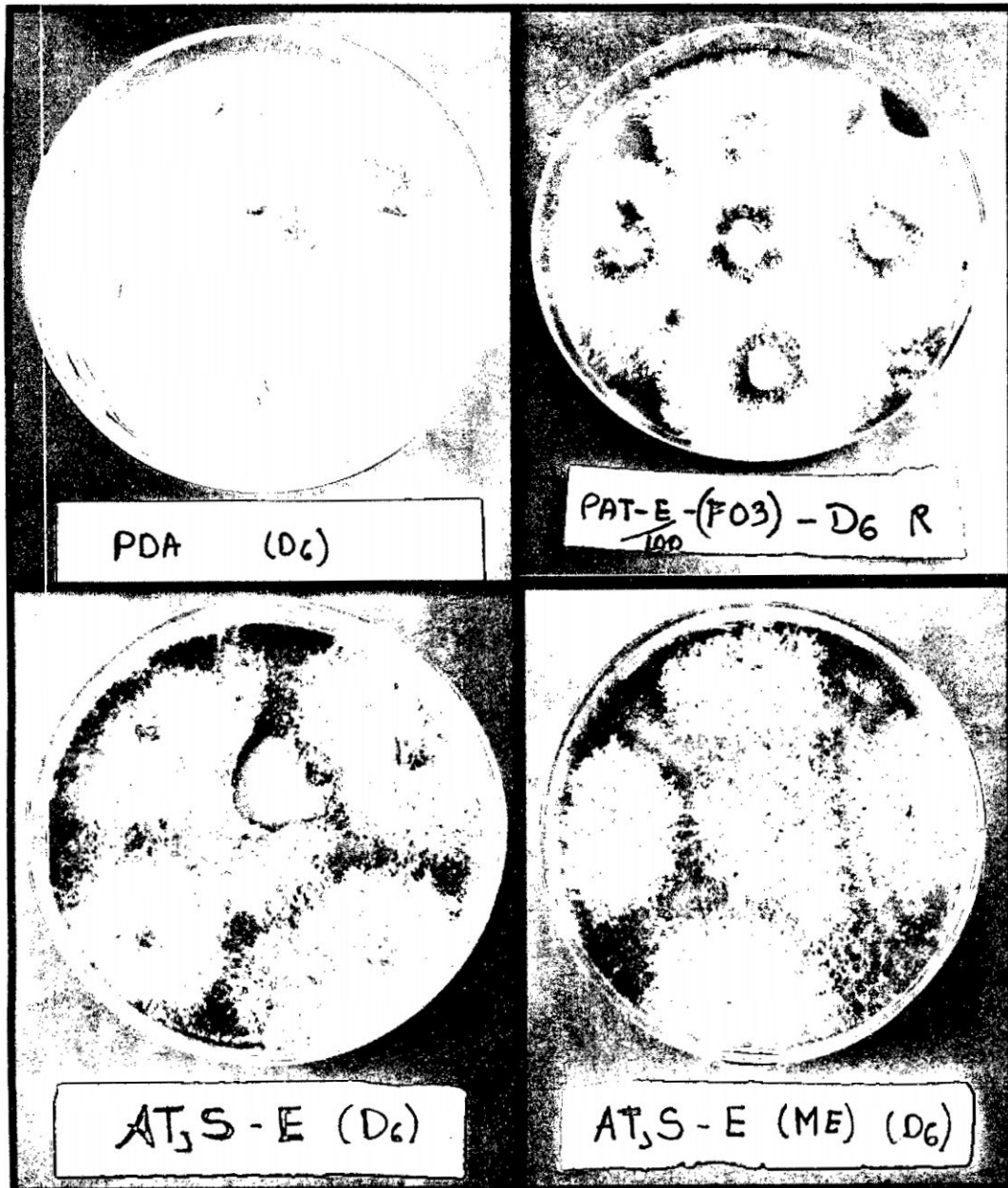
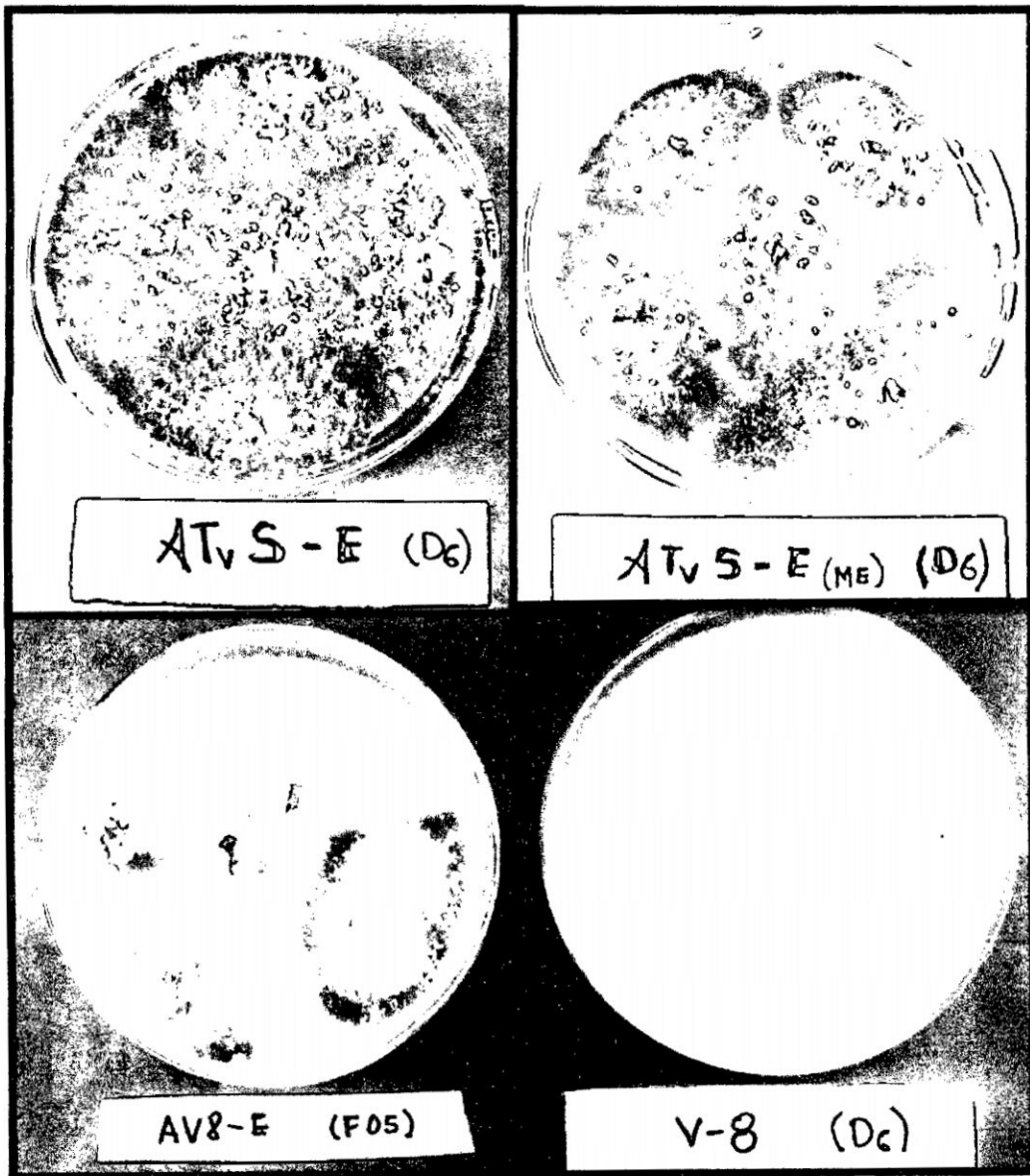
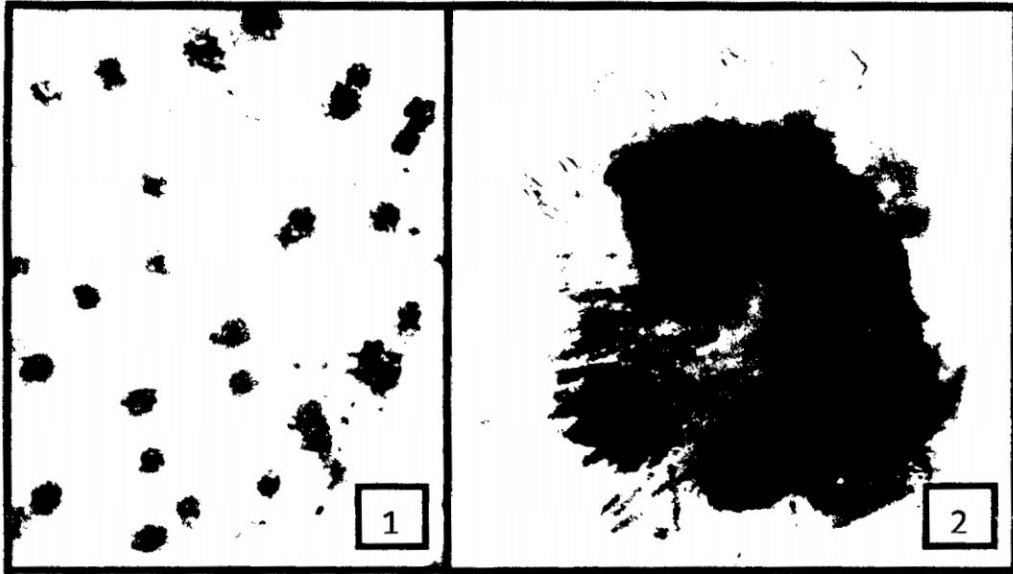


Gráfico 3.11. Crecimiento de colonias de *Didymosphaeria* sp. en cuatro medios de cultivo (PDA, PAT-E, ATjS y ATj-ME).

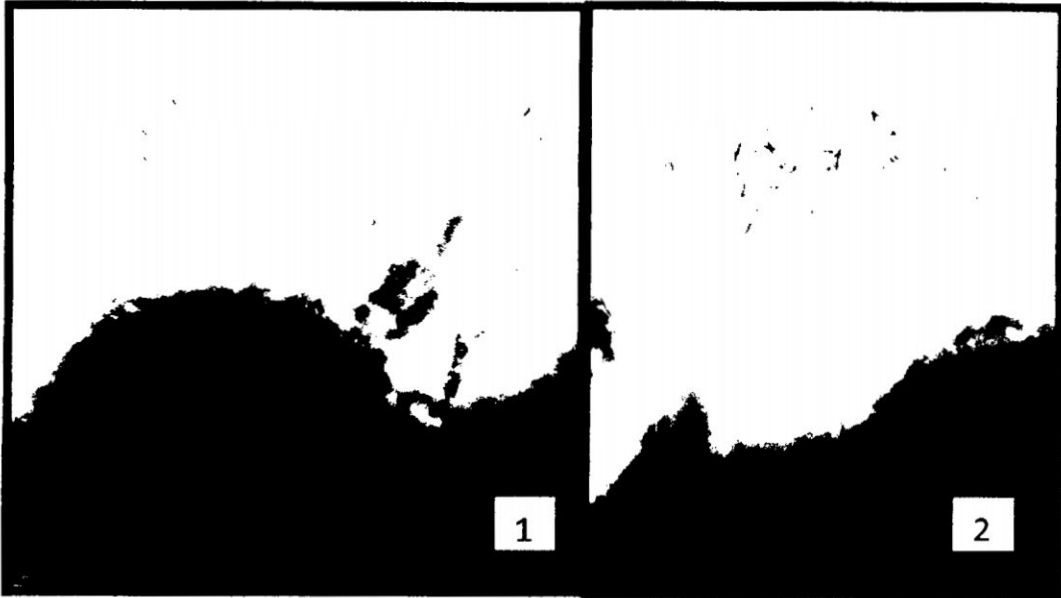


**Gráfico 3.12.** Crecimiento de colonias de *Didymosphaeria* sp en cuatro medios de cultivo (ATvS-E, ATv, Agar-V8 y Agar-V8-E).

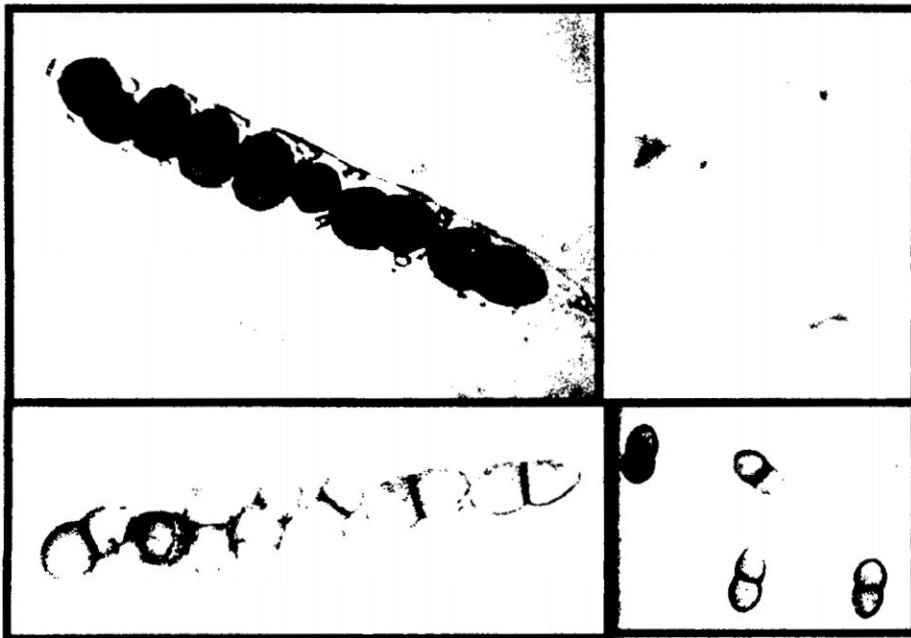
Las características estructuras reproductivas principales de *Didymosphaeria sp.* que se formaron en los medios de cultivo, fueron confrontadas con las descripciones del CMI de Inglaterra (Commonwealth Mycological Institute) para este género, lográndose llegar solamente a determinar el género. Las microfotografías se muestran Gráfico 3.13, 3.14, 3.15.



**Gráfico 3.13.**(Fotografía 1)Seudotecios errumpentes ostiolados, aislados y oscuros en la epidermis de penca afectada por *Didymosphaeria sp.*(Fotografía 2)Seudotecio (ascostroma) unilocular, redondeado de color oscuro, de *Didymosphaeria sp.* mostrando numerosas ascas (por F. Barrantes, 2014).



**Gráfico 3.14.**(Fotografía 1 y 2) Seudotecio y ascas maduras (izquierda) y seudo parafisas trabeculadas que se forman sobre las ascas dentro delseudotecio.(Derecha).



**Gráfico 3.15.** (Fotografías) Ascas y ascosporas maduras de *Didymosphaeria sp.* se forman dentro delseudotecio.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, discusiones realizadas y teniendo en cuenta las condiciones en que se condujo el presente experimento se concluye:

1. De las 30 accesiones de tuna evaluadas por resistencia y susceptibilidad, las de mayor Índice de Severidad de infección con cercosporiosis fueron P5 con 62.83% y P29 con 33.5%.
2. Las accesiones P27, P28 y P20 no desarrollaron síntomas y se clasifican como resistentes a la cercosporiosis.
3. La caracterización morfológica de 28 caracteres de planta y cladodio en 30 accesiones de tuna permitió formar 06 Morfotipos.
4. El 90 % de las accesiones se incluyen en *Opuntia ficus-inidica* Mil. Y el 10% en *Opuntia robusta* W.
5. En la prueba de medios no se logró el aislamiento de *Cercospora* sp. de lesiones.
6. El único hongo aislado de cinco fases de cercosporiosis fue el ascomiceto *Didymosphaeria* sp..

7. Los mejores medios para aislar *Didymosphaeria sp.* fueron agar tuna joven sucrosa y agar tuna joven sucrosa –microelementos.

#### **4.2 RECOMENDACIONES**

En base a las conclusiones obtenidas en el presente trabajo de investigación se recomienda lo siguiente:

1. Continuar con las evaluaciones de germoplasmas de tuna para confirmar los resultados de susceptibilidad y resistencia.
2. Realizar la caracterización genética con marcadores moleculares de las accesiones de tuna del Banco de Germoplasma de Wayllapampa.
3. Iniciar con programas de cruzamiento genético para transferir genes de resistencia a tunas comerciales.

## RESUMEN

### RESISTENCIA FENOTÍPICA DE 30 ACCESIONES DE TUNA (*Opuntiasp.*) A LA CERCOSPORIOSIS (*Cercosporasp.*) HUANTA A 2628 msnm, AYACUCHO.

Para determinar la resistencia de 30 accesiones de tuna (*Opuntia sp.*) a la cercosporiosis (*cercospora sp*), en este estudio se realizó el aislamiento de cladodios con síntomas de la enfermedad. Hongos fitopatógenos *cercospora sp* y *Didymosphaeria sp*. La enfermedad causada por este hongo es conocida en Perú como "Cercosporiosis" de tuna, enfermedad que causa bajos rendimientos de fruta.

Serecolectó una muestra pencas de tunas del Banco de Germoplasma de Pucaqasa del C.E Wayllapampa y se trasladaron a Huanta para inducir la inoculación natural. La investigación se realizó en los meses de noviembre del 2013 a setiembre del 2014. La unidad de muestra consistió en 03 pencas de cada accesión.

La evaluación de los cambios sintomatológicos de la enfermedad se realizó quincenalmente, durante 10 meses, registrándose los cambios morfológicos de las lesiones desde su fase inicial (F1) hasta la fase final de esporulación (F6). Tomándose en cuenta únicamente las lesiones que concluyeron con el ciclo y llegaron a la última fase (F6). Para esto, la accesión P5 registró un 30 % de porcentaje de severidad, (susceptible), y la P29 un 17% (susceptible); al contraste con este resultado las accesiones P20, P27 y P28 no han mostrado sintomatología con 0.0 % de severidad (resistente). Las demás accesiones se califican como tolerantes.

La caracterización agro-morfológica de 28 caracteres de planta y cladodio, de las 30 accesiones de tuna, formó seis grupos o morfotipos, expresando diferencia genética entre todos.

De los ocho medios de cultivo evaluados, solamente dos (M3 y M6), fueron los que brindaron mejores condiciones nutricionales para el crecimiento lineal de las colonias del patógeno. Y así mismo, de las cinco fases de la Cercosporiosis evaluadas, la última (F6) es la que mejor se ha comportado en crecimiento lineal de la colonia y menor tiempo de esporulación.

## ABSTRACT

### PHENOTYPIC RESISTANCE OF 30 ACCESSIONS TUNA (*OPUNTIA SP.*) TO CERCOSPORIOSIS (*CERCOSPORA SP.*) HUANTA A 2628 m.sn.m AYACUCHO.

To determine the resistance of 30 accessions of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill) to Cercosporiosis (*Cercosporasp*), in this study the isolation of cladodes with symptoms of the disease was performed. Phytopathogenic fungi *Cercospora sp* and *Didymosphaeria sp*. The disease caused by this fungus is known in Peru as "Cercosporiosis" of tuna, disease causing low yields of fruit.

A sample of tunas Germplasm Bank Pucacasa the C.E Wayllapampa was collected and transferred to Huanta to induce natural inoculation. The research was conducted in the months of November 2013 to September 2014. The display unit consisted of 03 leaves of each accession.

Evaluation of changes symptomatologic disease was performed biweekly for 10 months, registering the morphological changes of injuries since its initial phase (F1) until the final stage of sporulation (F6). Taking into account only the injuries which resulted in the cycle and reached the final stage (F6). For this, the P5 accession recorded a 30% percentage of severity, (susceptible), and 17% P29 (susceptible); Contrast this result with the P20, P27 and P28 accessions have shown no symptoms with 0.0% severity (resistant). Other accessions are classified as tolerant.

The agro-morphological characterization of 28 characters floor and cladode, of the 30 accessions of tuna, formed six groups or morphotypes, expressing genetic difference among all.

Of the eight culture media tested, only two (M3 and M6) were those that gave better nutritional conditions for the linear growth of the colonies of the pathogen. And likewise, the five phases of the Cercosporiosis evaluated, the last (F6) is best behaved linearly colony growth and sporulation shorter.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS G, N. 1988. Escape From Disease. plant disease, an advanced treatise, academic press, Vol. V.
- AGRIOS G, N. 2005. Plant Pathology. 5ta Edition. Elsevier: Academic Press, New York pp. 803
- BARRANTES, DEL A, F. 2000. Enfermedades de las plantas cultivadas en Ayacucho. revisión anual de fitopatología andina. E.F.P.A-FCA-UNSCH.
- BARRANTES DEL A, F. (1998). Enfermedades De La Tuna (*Opuntia ficus-indica* Mill.) En Ayacucho. Resúmenes Del IV Y V Congreso Internacional De La Tuna Y Cochinilla, Ayacucho.
- BATEMAN D, F. 1978. The Dynamic Nature Of Disease. Plant Disease, An Advanced Treatise. Academic Press, Vol. III.
- BEKMAN P,M and PAYNE G, A. 1983. Culture techniques and conditions influencing growth and sporulation of *Cercosporazeae-maydis* and lesion development in corn. The American phytopathological society Vol 73 N° 2.
- BRAVO-HOLLIS, H; SANCHEZ – MEJORADA H. 1991b. Las Cactaceas De México. 2da edición. Universidad Nacional Autónoma De México (UNAM). México, D.F. México. Vol III.
- BRAVO-HOLLIS Y SHEINVAR, 1995. El interesante mundo de las catáceas. Fondo de cultura económico. México DF- México.
- BOX, M. 2005. Prontuario De Agricultura: Cultivos Agrícolas. Ediciones Mundi-Prensa, Ministerio De Agricultura Pesca Y Alimentación. Madrid, España.
- BRITTON N, L. and ROSE J, R. 1963. The Cactaceae. Descriptions and illustrations of plant of cactus family. New York: Dover Publications, INC.
- CHESSA, I. 2010. Cactus Pear Genetic Resources Conservation, Evaluation And Uses. In Nefzaoui, A. Inglese, P. And Belay, T. (Eds.). Improved utilization of cactus pear for food, feed, soil and water conservation and other products in africa. proceedings of international workshop, mekelle (ethiopia), 19-21 October, 2009. Cactusnet Newsletter. Issue 12.
- CHESSA I.; SIRCA C.; NIEDDU G.; 2002 - Evaluation data from an olive germplasm collection. Acta Horticulturae 586, 155-158.

- CHESSA I.; NIEDDU G.; DE PAU L.; SATTA D.; 2002 - Changes in the morphology and structure of *Opuntia ficus-indica* (Mill.) cladode surface. *Acta Horticulturae* 581, 185-189.
- CHESSA I.; NIEDDU G.; 2002. Investigations on variability in the genus *Opuntia* as fruit crop for genetic improvement. *Acta Horticulturae* 575, 345-353.
- CHESSA, I. and NIEDDU, G. 1997. Descriptors For Cactus Pear (*Opuntia Spp.*). *Cactus Netnews Letter*. Special Issue: May.
- COWLING, B. 1979. The engineering mechanisms of pathogenesis. En *plant disease an advanced treatise VOL. III*. Academic Press, New York.
- DAY P, R. 1978. The Genetic Base Of Epidemics. *Plant Disease, An Advanced Treatise*. Academic Press, Vol. II.
- DHINGRA, O, D. and SINCLAIR J, B.. 2003. *Basic Plant Pathology Methods*. Lewis Publishers, CRC. Second Edition. London, England. 484 p.
- DODMAN R, L. 1979. How The Defenses Are Breached. *Plant Disease, An Advanced Treatise*. Academic Press, Vol. IV.
- FLORES V, C.A, DE LUNA E, J.M. Y RAMÍREZ M, P.P. 1995. Mercado mundial de la tuna. apoyos y servicios a la comunidad agropecuaria (ASERCA). Universidad Autónoma De Chapingo(UACH) - CIESTAAM. Chapingo – México.
- FRENCH, H. 1985. *Métodos de investigación en laboratorio* Turrialba, Sn. José Costa Rica, 345 p.
- GOMEZ C, Z. 2003. Sintomatología de la Cercosporiosis (*Cercospora opuntiae*) En tres comunidades de la provincia de Huanta – Ayacucho, Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga. (UNSCH). Ayacucho – Perú.
- GONZALEZ, A, 2001. El género *Opuntia* en Jalisco. *Guía de Campo*. UG. México.
- GRIFFITH M, P. 2004. The Origins Of an Important Cactus Crop *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae). *New Molecular Evidence*. *American Journal Of Botany* 91 (11).

- GUILLOTT O, D, E.; LAGUNA L, Y.; ROELLÓ P, J.A. 2008. Monografías de revista bouteloua. Joule editor y consultro ambienta y flora motiberica cedro. Jaca España.
- GUZMAN P, O. y RIVILLAS O, C. 2005. Producción in vitro de conidias de *Cercosporacoffeicola*. Cenicafé Vol 56 (1) 67-78.
- HAMMERSCHMIDT R.; NICHOLSON R.L. 2000 A survey of plant defense responses to pathogens, in: Agrawal A.A., Tuzun S., Bent E. (Eds.), Induced plant defense against pathogens and herbivores, APS Press, Minneapolis, USA, p. 390.
- LEON, J. 2000. Botánica de los cultivos tropicales N° 84. Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura. San José de Costa Rica.
- MACNEISH R, S. 1991. The origins of agriculture and settled life. University Of Oklahoma Press: Norman Publishing Division Of The University. First edition.
- MONDRAGÓN J, C., AND CHESSA, I. 2010. A Global perspective on genetic resource of cactus pear; an asset for the future sustainability of semiarid lands. in proceedings (oral presentation) of the viith international congress on cactus pear and cochineal and VIITH general meeting of the FAO-ICARDA International Technical Cooperation Network On Cactus Pear And Cochineal. October 17-22. Agadir, Morocco.
- MONDRAGÓN J, C. 2001. Cactus pear breeding and domestication. Plant Breeding Reviews 20: 135-166.
- OCHOA, M. 2012. Es Mancha Negra "Pseudocercospora Opuntia una Importante Enfermedad En Plantaciones De Opuntias (Tunas) Para Fruta, Forraje Y Nopalitos..I Reunión Sudamericana Cactusnet Fao Icarda En Argentina (2012).
- PAINTING, K.A.; PERRY M.C.; DENNING, R.A.; AYAD, W.G. 1993. Guía para la Documentación de Recursos Genéticos. Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma.
- PAUL, P. A.; MUNKVOLD. 2005. Influence of Temperature and Relative Humidity on Sporulation of *Cercosporazeae-maydis* and Expansion of Gray Leaf Spot Lesions on Maize Leaves. Published by The American

Phytopathological Society. Published by The American Phytopathological Society Volume 89 N°6.

- PIMIENTA B, E.1992. Agricultura Sostenible: Un enfoque ecológico, socio económico y de desarrollo tecnológico. comisión de estudios ambientales colegio de posgraduados(COLPOS) Instituto Interamericano De Cooperación Para La Agricultura (IICA)N° 306. México.
- PINKAVA D, J.2002. On the evolution of the continental North American opuntioideae(Cactaceae). In: Studies In The Opuntioideae. Hunt, D. And N. Taylor. David Hunt, Milborn Port.
- PINKAVA, D, J. and BAKER M, A. 1985. Chromosome and hybridization studies of agaves. Desert Plants 7:93-100.
- PRICE III, PAUL PATRICK, 2013. Sensitivity and Resistance of *Cercospora kikuchii*, Causal Agent of Cercospora Leaf Blight and Purple Seed Stain of Soybean, to Selected Fungicides. Plant Pathology & Crop Physiology.
- PROFEL, 1985. Programa de frutales y Elaboración de Licores- FCA-UNSCH.
- PULDÓN P, V. 2006. Documentación, Conservación y Multiplicación de germoplasma. Instituto de Investigaciones del Arroz (IIArroz), La Habana.
- QUEROL LD. 1998.Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado. Aproximación técnica y socioeconómica. Perú: Editorial Industrial gráfica.
- QUEZADA, A; SANDOVAL, S;ALVARADO, D y CÁRDENAS, E2006.Etiología De La Mancha Negra Del Nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill) En Tlalnepantla, Morelos, México
- SCHEFFER M, R. (1969) Cercosporiosis de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) características biológicas del agente causal (*Cercospora longissima* (Cug.) Sacc.) y su control. Universidad Nacional Agraria La Molina.(UNALM) –Lima - Perú.
- UZUN, I. 1996. Fruit and cladodes isozymes in cactus pear.
- VATHAKOS M, G. and WALTERS, H, J. 1979. Production of conidia by *Cercospora kikuchii* in culture. The American phytopathological society Vol 68 N°8.

**ANEXO**

## AXENO 1

### DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS DE LA TUNA (*Opuntia spp*)

#### 1. PLANTA

##### 1.1. Vigor

1. Bajo
2. Intermedio
3. Alto

##### 1.2. Tamaño

1. Pequeño (Altura <1.5 m)
2. Mediano (Altura 1.6 – 2.0 m)
3. Grande (Altura >2.1 m)

##### 1.3. Forma

1. Extendido (Ancho > altura)
2. Radiado (Ancho = altura)
3. Alargado (Ancho < altura)



Extendido



Radiado



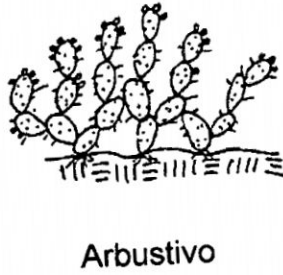
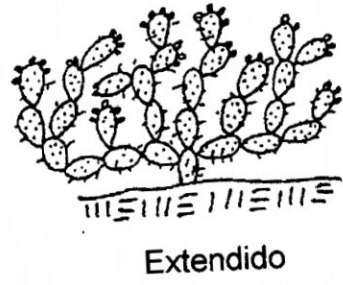
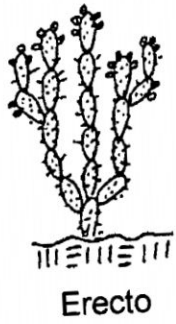
Alargado

##### 1.4. Alternancia de fructificación.

0. Ausente
1. Presente

##### 1.5. Hábito de Crecimiento.

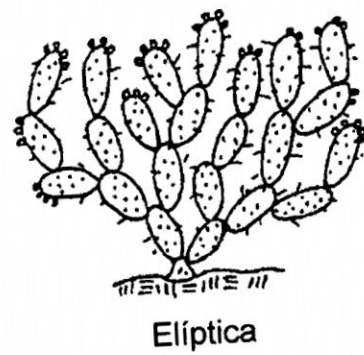
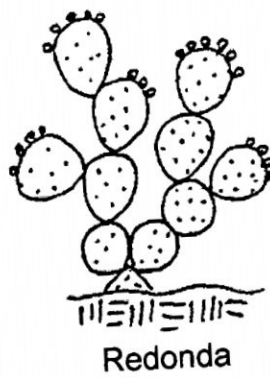
1. Erecto
2. Intermedio
3. Extendido
4. Postrado
5. Arbustivo
6. Arborescente

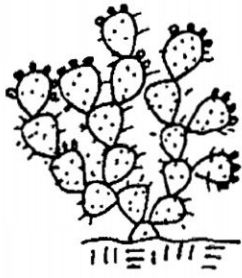


## 2. CLADODIO

### 2.1 Forma

1. Aovado
2. Redondo
3. Elíptico
4. Subovoide
5. Espatulado
6. Elíptico acuminado
7. Lanceolado

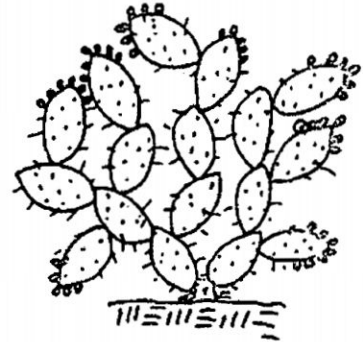




Subovoide



Espatulada



Elíptica acuminada



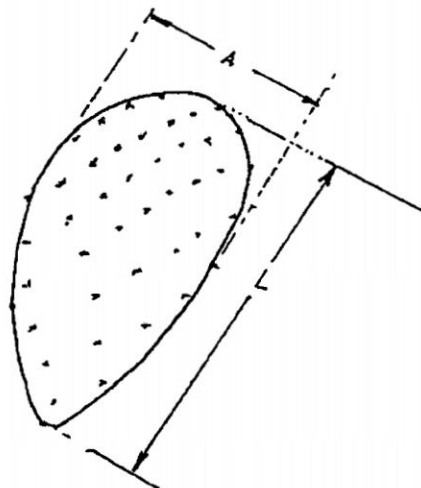
Lanceolada

## 2.2 Longitud (cm).

Medida en cladodios de 1 a 2 años, desde la base al ápice en el eje central.

## 2.3 Ancho (cm).

Medido en el mismo cladodio en la parte más ancha perpendicular al eje central.

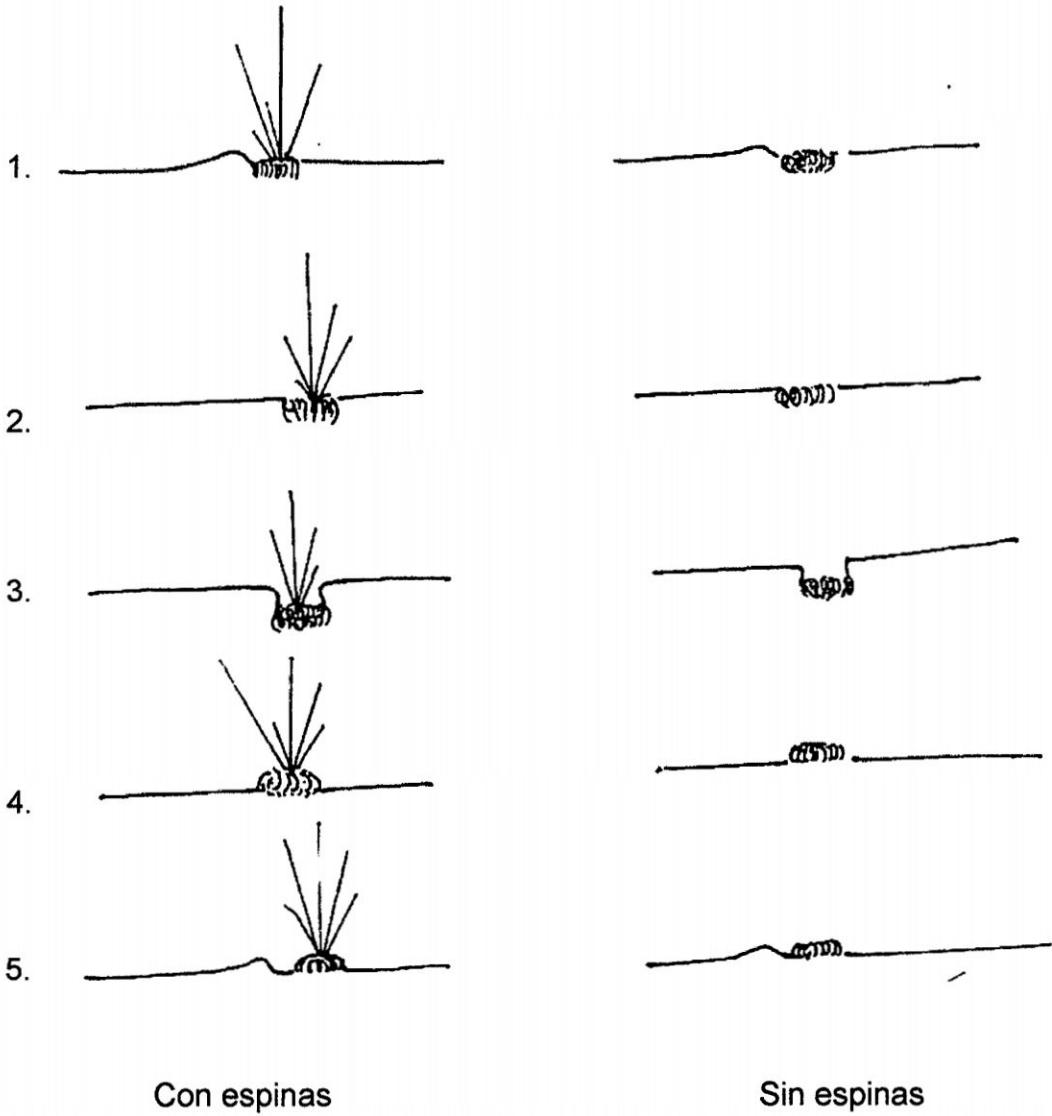


Longitud y ancho del cladodio

- 2.4 Espesor en el tercio inferior del cladodio (mm).
- 2.5 Espesor en el tercio medio del cladodio (mm).
- 2.6 Espesor en el tercio superior del cladodio (mm).
- 2.7 Relación largo/ancho del cladodio.
- 2.8 Color
  1. Verde azulado
  2. Verde amarillento
  3. Verde grisáceo
  4. Verde oscuro
  5. Verde claro
- 2.9 Porcentaje de cladodios de un año de edad, con respecto al total.
- 2.10 Porcentaje de cladodios productivos de fruto, respecto al total.
- 2.11 Porcentaje de cladodios no productivos de fruto, respecto al total.
- 2.12 Número de frutos/cladodio.
- 2.13 Cantidad de espinas.
  0. Ausente
  1. Escasa
  2. Regular
  3. Abundante
- 2.14 Longitud de espinas centrales (mm).
- 2.15 Longitud de espinas centrales o radiales (mm).
- 2.16 Número de espinas/areola en cladodios de 1 a 2 años.
- 2.17 Color de espina.
  0. No presenta espinas
  1. Blanco
  2. Marrón pálido
  3. Marrón oscuro
  4. Gris

2.18 Forma de posición de las areolas en el plano del cladodio.

1. Emergente
2. Planas
3. Hundida
4. Plana sobre fieltro
5. Emergente sobre fieltro



2.19 Gloquídeas

0. Ausente
1. Escasa
2. Regular
3. Abundante

2.20 Color de gloquídeas.

0. No presenta gloquídeas
1. Marrón pálido
2. Marrón canela
3. Gris

2.21 Número de areolas/cladodio.

2.22 Densidad de areolas en el borde apical del cladodio ( $n/cm^2$ ).

2.23 Densidad de areolas en los bordes del cladodio ( $n/cm^2$ ).

2.24 Densidad de areolas en las caras del cladodio ( $n/cm^2$ ).

2.25 Cladodio ceroso.

0. Ninguno
3. Bajo
5. Intermedio
7. Alto

2.26 Diámetro de las espinas.

0. No presentan espinas
1. Delgado
2. Intermedio
3. Grueso

2.27 Espesor de cutícula en cladodios de 1 a 2 años de edad.

1. Delgado
2. Intermedio
3. Grueso

### 3. FLOR

3.1 Floración desde la emergencia de yemas florales (días).

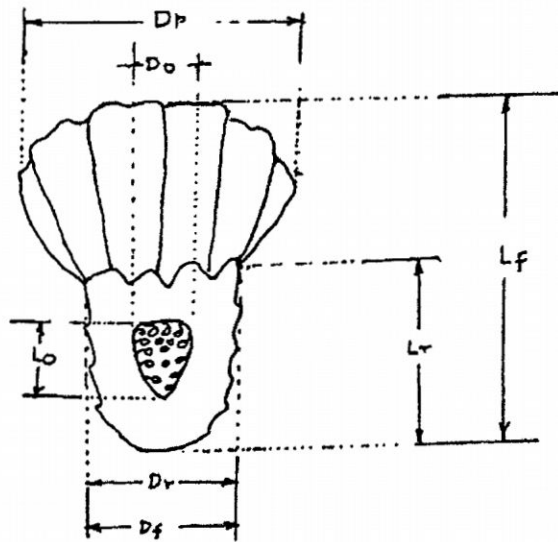
3.2 Longitud de flor (mm).

3.3 Longitud de receptáculo (mm).

3.4 Diámetro de receptáculo (mm).

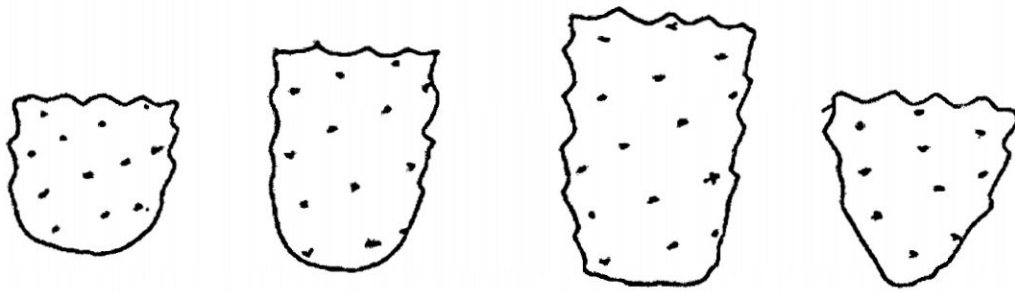
3.5 Longitud de perianto (mm).

3.6 Diámetro de perianto (mm).



Longitud y ancho de partes florales

- 3.7 Longitud de ovario (mm).
- 3.8 Diámetro del ovario (mm).
- 3.9 Color de lóbulo del estigma.
0. No presenta lóbulo del estigma
  1. Verde claro
  2. Verde amarillento
  3. Rosado
- 3.10 Longitud de anteras (mm).
- 3.11 Relación largo/diámetro de la flor.
- 3.12 Longitud de estilo (mm).
- 3.13 Relación largo/diámetro del receptáculo.
- 3.14 Forma del receptáculo.
1. Semielíptico
  2. Semielíptico largo
  3. Semitrapezoidal largo
  4. Obcónico



Semielíptico      Semielíptico largo      Semitrapezoidal largo      Obcónico

3.15 Relación largo/diámetro del perianto.

3.16 Densidad de areolas en el receptáculo (unid/cm<sup>2</sup>).

3.17 Número de pétalos.

3.18 Color de pétalos en el primer día de floración.

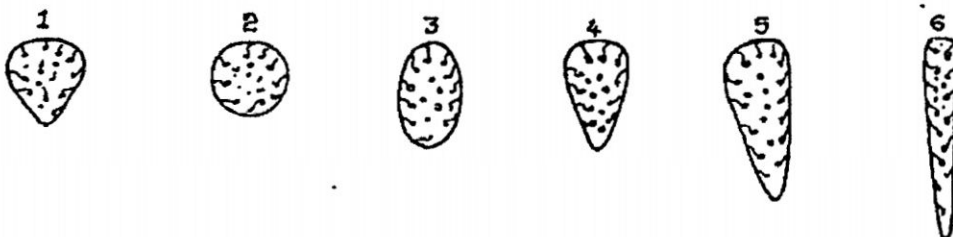
1. Amarillo
2. Verde luz
3. Naranja
4. Rosado

3.19 Número de segmentos del estigma.

3.20 Relación del largo/diámetro del ovario.

3.21 Forma del ovario.

1. Ovoide
2. Redondo
3. Elíptico
4. Oblongo
5. Oblongo alargado
6. Lineal



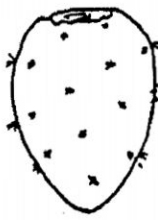
3.22 Número de estambres

#### 4. FRUTO

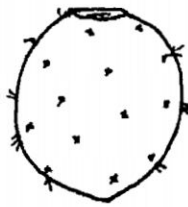
Promedio de 10 frutos sanos cosechados oportunamente (color constante)

##### 4.1 Forma

1. Ovoide
2. Redondo
3. Elíptico
4. Oblongo
5. Obcónico
6. Oblongo pedunculado



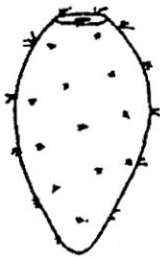
Ovoide



Redondo



Elíptico



Oblongo



Obcónico



Oblongo pedunculado

4.2 Tamaño.

4.3 Peso (g).

4.4 Volumen (cc).

4.5 Longitud (mm).

4.6 Diámetro (mm).

4.7 Relación largo/diámetro del fruto.

4.8 Diámetro de cicatriz de receptáculo (mm).

4.9 Depresión de cicatriz de receptáculo (mm).

4.10 Posición de cicatriz de receptáculo.

1. Elevado (> 0mm)
2. Aplanado (0 a -2 mm)
3. Semihundido (-3 a -5 mm)
4. Hundido (-6 a -9 mm)
5. Hundido (> -10 mm)

4.11 Desarrollo del pedúnculo.

0. Ninguno
1. Corto
2. Mediano
3. Abundante

4.12 Color de cáscara.

1. Amarillo limón
2. Rojo naranja
3. Rojo amarillento
4. Rojo teja
5. Morado
6. Morado intenso
7. Rosado verdoso

4.13 Peso de cáscara (g).

4.14 Espesor de cáscara (mm).

4.15 Gloquídeas sobre la cáscara del fruto.

1. Escasa
2. Regular
3. Abundante

4.16 Espinas en el fruto.

0. Ausente
1. Presente

4.17 Color de gloquídeas.

1. Marrón pálido
2. Marrón canela
3. Gris

- 4.18 Longitud de gloquídeas (mm).
- 4.19 Número de areolas/fruto.
- 4.20 Densidad de areolas en el fruto ( $n/cm^2$ ).
- 4.21 Peso de pulpa (g).
- 4.22 Color de la pulpa.
1. Blanco amarillento
  2. Blanca cremosa
  3. Verde claro
  4. Naranja
  5. Amarillo zapallo
  6. Morada
  7. Morada intensa
  8. Rojo teja
- 4.23 Consistencia de la pulpa.
1. Floja
  2. Mediana
  3. Compacta
- 4.24 Forma de la semilla.
1. Elíptica alargada
  2. Redonda
  3. Reniforme
  4. Espiral lobulada
  5. Reniforme lobulada
- 4.25 Tamaño de semilla.
1. Pequeña
  2. Mediana
  3. Grande
- 4.26 Peso de 100 semillas (g).
- 4.27 Número total de semillas/fruto ( $n/fruto$ ).
- 4.28 Cantidad de semillas en el fruto.
1. Muy escaso (<100)
  2. Escaso (101-200)
  3. Regular (201-300)
  4. Abundante (301-500)

5. Muy abundante (>500)

4.29 Porcentaje de semillas abortadas/fruto.

4.30 Cantidad de semillas abortadas.

- 0. Ninguna (0%)
- 1. Escasa (<10%)
- 2. Media (11-30%)
- 3. Abundante (31-50%)
- 4. Muy abundante (>50%)

4.31 Desarrollo del fruto desde emergencia de yema floral hasta la madurez comercial (días).

4.32 Sabor del fruto.

- 1. Agridulce
- 2. Poco dulce
- 3. Dulce
- 4. Muy dulce



### ANEXO 3

Fotos del Banco de Germoplasma Pucaqasa- Wayllapampa.



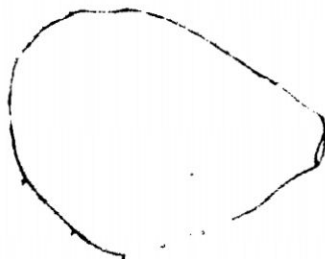
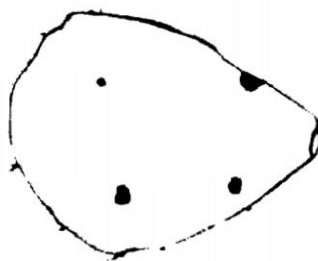





## ANEXO 4

Fotos de las evaluaciones en campo en San Luis - Huanta



### ANEXO 5

Escala gráfica para la evaluación de Cercosporiosis (*Cercospora* sp.)

ESCALA PARA EVALUACIÓN DE CERCOSPORIOSIS ( <i>Cercospora</i> sp.)	
	PENCA SANA 0%
	3%
	9%
	19.5%
	35.5%
	47.5%
	77.5%

## ANEXO 6

Fotos de la siembra de lesiones de trozos de pencas en los medios de cultivo y colonias en crecimiento puras y contaminadas.

