

Fitopatógenos asociados al manchado del cáliz de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Ma. Nieves Trujillo-Tapia¹, Eustacio Ramírez-Fuentes²
Instituto de Ecología¹, Instituto de Recursos²
Universidad del Mar
Puerto Ángel, Oax. México
[nieves, eustacio]@angel.umar.mx

Abstract—*Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) popularly known in Mexico as “Jamaica”, “flor de jamaica”, the dehydrated calyces are mainly used for the manufacture of drinks. Also it has been widely used in Mexican Traditional medicine and it’s recognized for its therapeutic effects as antihypertensive and in reducing the blood cholesterol levels. However, in the last ten years, its cultivation is having problems of diseases that primarily affect the calyces, that come to cause yield losses of up to 100%; therefore, the objective of this research was to identify the causative agents stained calyces of hibiscus. The Fungi isolated in leaves and calyces were identified based on morphological characteristics, which were: *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Coniella sp.*, *Corynespora sp.*, *Curvularia sp.* y *Phoma sp.*

Keyword—Pathogenicity, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Phoma*, *Fusarium*, Oaxaca

Resumen— La jamaica, mejor conocida como flor de jamaica, los cálices deshidratados se utilizan principalmente para la elaboración de bebidas refrescantes y desde el punto de vista de la medicina tradicional, se le reconocen sus efectos terapéuticos para la reducción de la presión arterial y en la reducción de los niveles de colesterol en sangre. Sin embargo, en los últimos diez años, su cultivo está presentando problemas de enfermedades que afectan principalmente a los cálices, llegando a provocar pérdidas en la producción hasta del 100%; por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue identificar él o los agentes causales del manchado de los cálices de la jamaica. Los hongos aislados en hojas y en cálices se identificaron con base a las características morfológicas, los cuales fueron: *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Coniella sp.*, *Corynespora sp.*, *Curvularia sp.* y *Phoma sp.*

Palabras claves—Patogenicidad, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Phoma*, *Fusarium*, Oaxaca

I. INTRODUCCIÓN

La jamaica (Familia: Malvaceae) es un cultivo de temporal, su ciclo biológico dura tres meses; se cultiva en la zona tropical y subtropical de México. A nivel nacional, la superficie cultivada y cosechada es de aproximadamente 19,000 ha, de las cuales, el 99.9 % son de temporal y se encuentran distribuidas en 10 estados, entre los que destacan Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Nayarit [1]. En el ciclo primavera-verano del 2013, Oaxaca, ocupó el segundo lugar en superficie sembrada con 2,501 ha y con una producción de 801.21 ton, lo que representa el 13.3% del total producido en el país [2]. La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), se conoce por su uso como bebida tradicional en México. Sus características le han dado una versatilidad en distintas áreas. Desde el punto de vista alimenticio y por su característico color rojo brillante, se utiliza principalmente para la elaboración de bebidas refrescantes, además de ates, mermeladas, jaleas, dulces y jarabes; y en la medicina tradicional, se le reconoce por sus efectos terapéuticos ya que, al extracto del cáliz se le atribuyen propiedades medicinales como: antioxidante, en la reducción de la presión arterial, y de los niveles de colesterol en sangre; acción astringente, digestiva y antibacterial, entre otros.

A pesar de que proporciona grandes beneficios a la salud y a la economía de los productores, ellos enfrentan el problema del bajo rendimiento ocasionado por factores como la falta de apoyo técnico y económico para las labores culturales, la pérdida de fertilidad del suelo, la incidencia de plagas y enfermedades, entre otros. En años recientes se ha detectado la aparición de manchas necróticas [3], las cuales provocan una reducción en la calidad de los cálices, ocasionado mermas en la producción. De

acuerdo a reportes previos para otros estados, se han identificado diversos patógenos causantes de las manchas: *Corynespora* sp., *Phomopsis* sp., *Glomerella* sp. y *Cercospora* sp.[4], *Fusarium oxysporum*, [5], *Coniella*, (reportada por primera vez en cálices de jamaica), y recientemente *Pilidiella diplodiella* (sinónimo: *Phoma diplodiella*), responsable de la mancha acuosa en el cultivo de jamaica [6]. Esta última, reportada como una nueva enfermedad en Cárdenas Tabasco, México. En el Estado de Oaxaca, no se tienen reportes oficiales sobre la incidencia de alguno de estos patógenos en el cultivo de jamaica; sin embargo, agricultores de las zonas productoras se han visto afectados por la presencia de la enfermedad del manchado de cáliz. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue identificar el o los agentes causales del manchado de los cálices de la Jamaica cultivada en la zona de Santo Domingo de Morelos, Oaxaca.

II. METODOLOGÍA

A. Cultivo de la jamaica

Se seleccionaron tres parcelas con una superficie de una hectárea cada una: dos parcelas en la comunidad de Caña Brava (municipio de Santo Domingo de Morelos) y una en la comunidad de Palma Larga (municipio de Tonameca) en Oaxaca. El cultivo fue de temporal y se estableció durante el ciclo agrícola primavera-verano (2013-2014), para ambos casos. En las parcelas de Caña Brava, la siembra fue de conservación, aplicando 15 días antes de la siembra, glifosato y atrazina para la reducción de las malezas. Se trazaron surcos de un metro de ancho con meca hilo, se colocaron de cuatro a cinco semillas criollas por golpe a una distancia de 50 cm.

En la parcela de Palma larga se realizó un barbecho y el surcado con yunta, no se utilizó herbicida para el control de malezas; la siembra fue similar a las parcelas de Caña Brava, con la diferencia de que en Palma Larga se utilizaron semillas de la variedad Sudán, Colima 5, Cotzalzin, Alma Blanca y Criolla.

B. Toma de muestra

Después de la emergencia de las plántulas de jamaica, se colectaron muestras de plantas de las variedades y criolla, en cada una de las parcelas establecidas cada 15 días (hasta la cosecha). Se seleccionaron diez plantas que presentaran daño en tallo, hoja y cáliz. Las muestras se colocaron en papel secante para trasladarlas al laboratorio de microbiología de la Universidad del mar.

C. Aislamiento e identificación del patógeno

Cada una de las muestras colectadas, se lavaron perfectamente con agua corriente, se cortaron en fragmentos de 0.5 cm de tejido de hojas, corteza de tallos y cálices, se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1.0% por tres minutos, se enjuagaron con agua destilada estéril y se secaron en papel secante estéril. Posteriormente cuatro fragmentos de los tejidos se transfirieron a cada caja de petri con medio de cultivo Papa + Dextrosa + Agar (PDA), todo se realizó dentro de una cámara de flujo laminar (ALDER CFH-13). Después de la siembra se colocaron en una incubadora con luz blanca continua y una temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, se monitorearon cada día, hasta observar el desarrollo de los organismos presentes en cada tejido.

A partir de los aislamientos obtenidos, en el medio de cultivo (PDA), se realizaron preparaciones permanentes en glicerol al 50%, y azul de lacto fenol, las cuales se observaron al microscopio para determinar las características microscópicas de cada hongo obtenido. La purificación de los hongos se hizo por medio de cultivos monospóricos sembrados en agar al 2% y para la caracterización taxonómica se utilizaron las claves especializadas de Barnett y Hunter [7, 8], Ellis [9, 10], Sutton [11], Burgess et al., [12] y Nelson [13].

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el ciclo de cultivo se presentaron dos tipos de síntomas característicos tanto en las hojas como en los cálices. El primer síntoma se observó en el haz de las hojas jóvenes (Fig. 1) con manchas circulares de color rojo en forma de peca de aproximadamente 2 mm, conforme avanza el síntoma, el centro de la mancha se seca y se torna de color crema; cuando el tejido muere, este se seca y se cae, la hoja queda con perforaciones, sin embargo, la mancha continua creciendo hasta alcanzar una forma irregular de aproximadamente 3 cm. Las manchas llegan a cubrir más del 50% de las hojas. Sin embargo, aunque la invasión de las hojas es severa, no provocó defoliación de la planta.

El segundo síntoma fueron pequeños anillos circulares irregulares de 2 mm de diámetro aproximadamente, el aumento del área necrosada es de una apariencia flácida y húmeda que avanza hacia el peciolo, induciendo una necrosis total y terminando con la caída de las hojas. Esta defoliación solo se observó en este síntoma denominado como mancha acuosa de la hoja [5]. Estos síntomas los identificó por primera vez Correa-Sánchez [6] en el estado de Tabasco al género *Phoma* sp y por medio de la amplificación del gen en las regiones ITS-DNAr se identificó a la especie *Phoma diplodiella* (sinónimo: *Pilidiella diplodiella*). Hasta la fecha, este hongo solo ha sido asociado al cultivo de *Vitis* vinífera y *Citrus aurantifolia*.

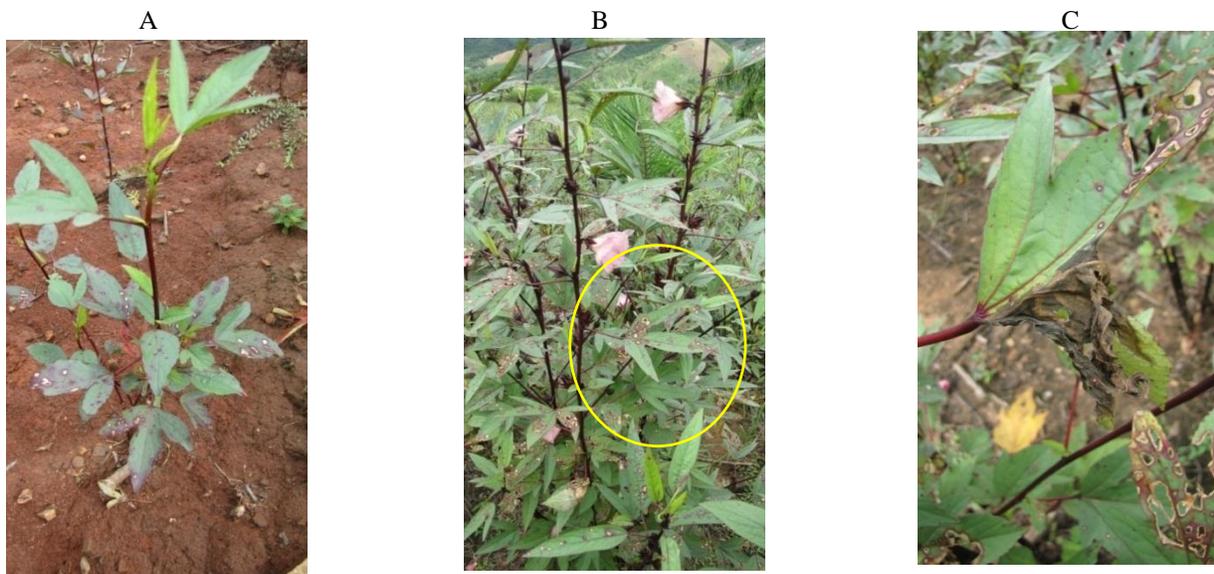


Fig. 1. Síntomas: A los 15 días de germinación (A), ya la floración (B); mancha foliar con apariencia acuosa (C).

Con respecto a los cálices, durante su crecimiento se observaron dos tipos de síntomas: En el primer síntoma se presentaron lesiones de color negro, ligeramente hundidas, de forma irregular de 1 a 5 mm (Fig. 2A), estas manchas al paso del tiempo invadieron hasta un 50% de la superficie del cáliz, las variedades que mostraron mayor susceptibilidad fueron: Criolla, Colima 5, Cotzalzin y Alma Blanca.

El segundo síntoma es aparentemente nuevo en la zona: la momificación completa del cáliz (Fig. 2B). Hasta el momento no se le puede atribuir a algún hongo en particular el síntoma de momificación, sin embargo, la variedad Sudán, mostró resistencia al manchado pero, no a la momificación del cáliz.

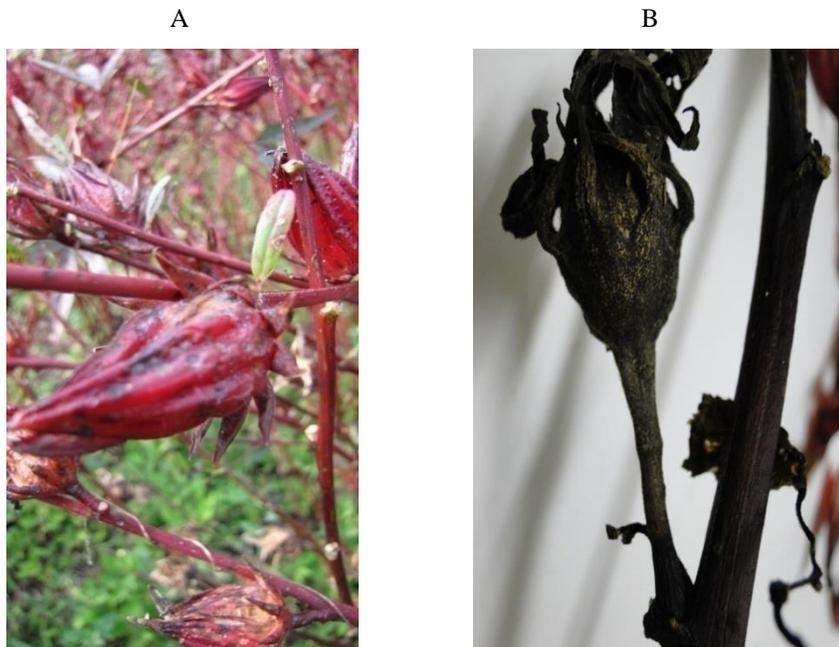


Fig. 2. Síntomas en cálices : Severidad de las manchas en los cálices (A); Momificado completamente (B).

Los hongos aislados en el cultivo de jamaica, en hojas y en cálices (Fig. 3) fueron: *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Coniella sp*, *Corynespora sp.*, *Curvularia sp.*, *Phoma sp* mientras que, en las muestras de hojas como de cálices, se aisló más de un hongo. De la misma forma Eslaminejad y Zakaria [7] identificaron y caracterizaron *Phoma exigua*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium camptoceras* y *Rhizoctonia solani* asociados del manchado de las hojas de jamaica. Las lesiones características del género *Phoma* son pequeñas manchas circulares que cuando crece, se unen hasta formar grandes lesiones e irregulares de color marrón oscuro con márgenes de color marrón claro, siendo más consistente en los patrones de infección y su presencia en los aislamientos de todas las variedades de jamaica, lo que se sugiere que *Phoma sp*, es más nocivo. Con respecto al género *Fusarium*, este no se encontró en todos los aislamientos de las variedades analizadas, este comportamiento de su presencia en algunas variedades y localidades específicas, sugiere que, es un género que no presenta patogenicidad en las mismas condiciones ambientales que la presenta el género *Phoma*. Por último, el género *Aspergillus*, se encontraron mayoritariamente en el fruto y semillas de las flores de jamaica momificadas.

IV. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que el patrón de síntomas encontrados en las manchas foliares son una combinación de más de un hongo fitopatógeno. Se identificó otro daño en los cálices (diferente al manchado), presentando síntomas de momificación. Además, se encontraron cálices con ambos síntomas. La presencia de *Coniella sp*. coincide con lo reportado en Guerrero por Martínez Sánchez [3], y *Phoma sp*. con lo reportado por Martínez-Sánchez[6] en Tabasco y Eslaminejad y Zakaria [14] en Malasia. Para identificar las especies de los hongos presentes en Oaxaca, es importante incorporar técnicas moleculares como una herramienta de confirmación.

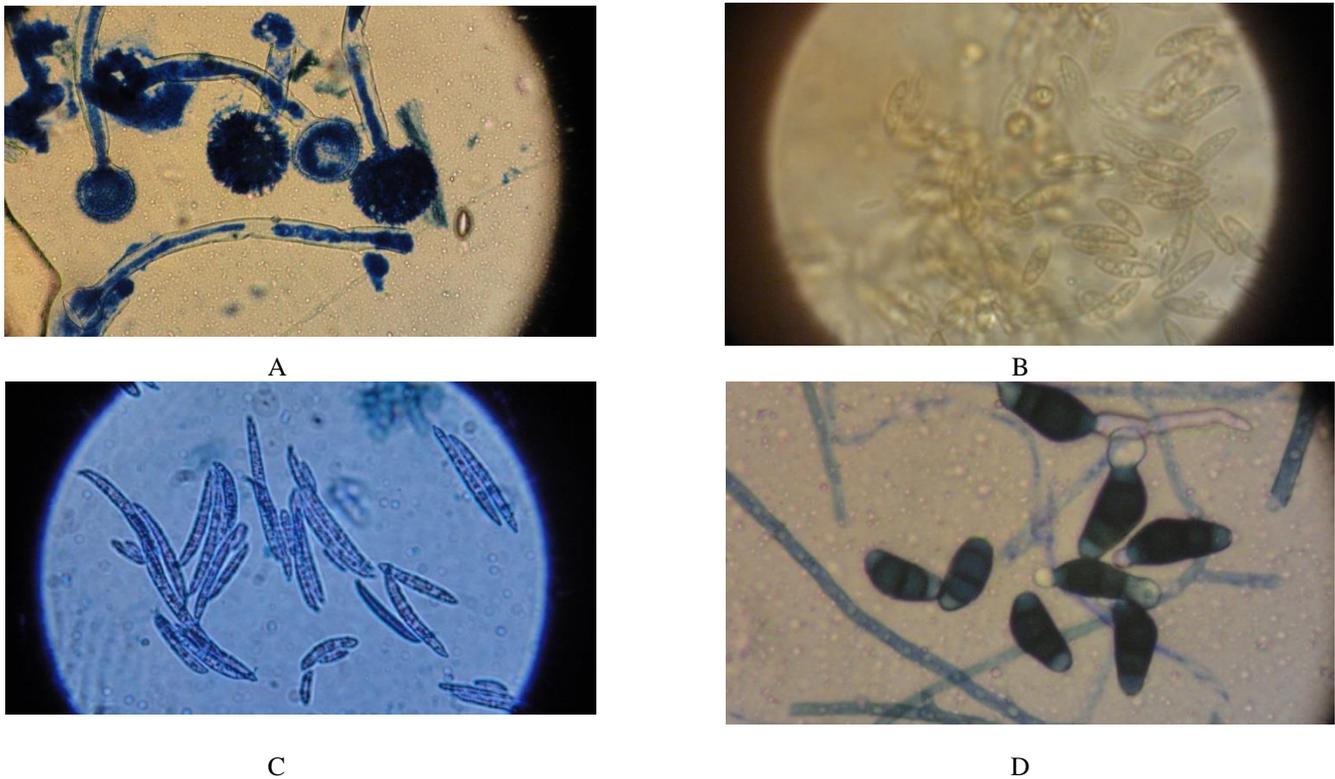


Fig. 3. Estructura morfológica de los hongos aislados e identificados: Conidios de *Coniella*. sp. (A), *Aspergillus niger* (B), esporas de *Fusarium oxisporum* (C) y esporas de *Curvularia* sp. (D).

RECONOCIMIENTOS

A la Fundación Produce Oaxaca A. C., por el financiamiento otorgado a través del proyecto: "Identificación y control del agente causal del manchado del cáliz de Jamaica". Agradecemos al señor Norberto Pérez, productor de jamaica de la comunidad de Palma Larga y al señor Guillermo Rafael Hernández de la comunidad de Santo Domingo de Morelos, en el municipio de Tonameca, Oaxaca, por su colaboración en el establecimiento de las parcelas. A la M.C. Claudia Sánchez López por su apoyo en la identificación de los hongos.

REFERENCIAS

- [1] Agenda de Innovación 2012-2015. Jamaica. Fundación Produce de Guerrero A.C. <http://fundacionproduceagro.org.mx/wp-content/uploads/2012/05/04-Jamaica.pdf>.
- [2] Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), México. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> [Fecha de consulta 07/07/2014].
- [3] C. Martínez-Sánchez. "Etiología e incidencia de hongos asociados al manchado de cáliz de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México," Tesis de maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, México, pp. 88, 2010.

- [4] J. Hernández-Morales, V. Ayala-Escobar, y L. Alanís-Martínez. “Caracterización de hongos asociados al síntoma de “ojo de gallo” de follaje de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México,” Memorias del XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana Fitopatología. Monterrey Nuevo León, México, pp.C.45,2008.
- [5] L. González-Satín. “Etiología de la enfermedad “pata prieta” de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Guerrero, México,” Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo, Departamento de parasitología Agrícola. Chapingo Estado de México, México, pp. 63, 2008.
- [6] E. Correa-Sánchez. “Etiología de la mancha acuosa de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Tabasco, México,” Tesis de maestría en ciencias. Colegio de posgraduados, campus Tabasco, México,pp. 73,2011.
- [7] Barnett, H.L., Hunter, B.B.. Illustrated genera of imperfect fungi. 3th ed. Burgess publishing company Minneapolis. MN, USA, 241 pp,1972.
- [8] Barnett, C., Hunter, B. Illustrated genera of imperfect fungi. 4 adición. Minneapolis. Editorial Burgess publishing. 120 p, 2006.
- [9] Ellis, M.B. More dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth mycological institute, kew, Surrey, UK. 507 p,1971.
- [10] Ellis, M.B., Holliday, B. *Corynespora cassicola*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No 303. Commonwealth mycological institute, kew, surrey, UK, 1-10p,1972.
- [11] Sutton, B.C. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidio, acervuli and stromata. Commonwealth mycological institute, Kew, Surrey, England. 696 p,1980.
- [12] Burgess, T.I., Barber, P.A., Mohali, S., Pegg, G., de Beer, W., Wingfield, M.J. Three new *Lasiodiplodia* spp., from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. *Mycologia* 98: 423-435,2006.
- [13] Nelson, P. Tousson, T. Marasas, W. *Fusarium* species, a illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park, 39-48p, 1983.
- [14] T. Eslaminejad, M. Zakaria. “Morphological characteristics and pathogenicity of fungi associated with Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) diseases in Penang, Malasya,”*Microbial pathogenesis* 51, 325-337, 2011.