



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO  
FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA

**MANCHAS FOLIARES Y DE CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus  
sabdariffa* L.): ETIOLOGÍA, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO**

SANTO ÁNGEL ORTEGA ACOSTA

TESIS

QUE PRESENTA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2016

---


---

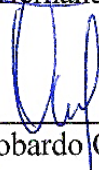
La presente tesis titulada; **MANCHAS FOLIARES Y DE CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.): ETIOLOGÍA, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO** realizada por el alumno: **Santo Ángel Ortega Acosta**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


**DOCTOR EN CIENCIAS**

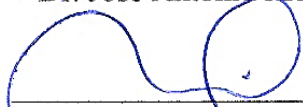
**POTGRADO EN FITOSANIDAD**

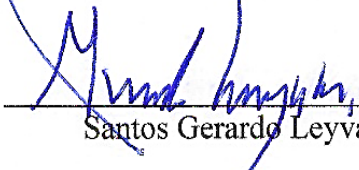
**FITOPATOLOGÍA**

CONSEJERO   
Dr. Javier Hernández Morales

ASESOR   
Dr. Daniel Leobardo Ochoa Martínez

ASESOR   
Dr. José Antonio Mora Aguilera

ASESOR   
Dr. Ciro Velasco Cruz

ASESOR   
Santos Gerardo Leyva Mir

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre de 2016.

# MANCHAS FOLIARES Y DE CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.): ETIOLOGÍA, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO

Santo Ángel Ortega Acosta, DC.  
Colegio de Postgraduados, 2016.

## RESUMEN

La enfermedad denominada manchado de hojas y cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), actualmente es la principal limitante fitosanitaria para la producción de este cultivo en Guerrero. Para determinar el agente causal de esta enfermedad, en 2013 se realizaron colectas con síntomas en hojas y cálices de jamaica. Las muestras de órganos colectados se procesaron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar. Los organismos aislados se identificaron con claves taxonómicas, estos fueron *Leptosphaerulina* sp., *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp. y *Corynespora cassiicola*. El hongo aislado con mayor frecuencia fue *Corynespora cassiicola*. En pruebas de patogenicidad, únicamente *C. cassiicola* indujo síntomas similares a los observados en el campo. El hongo patogénico se confirmó por amplificación de la región ITS como *Corynespora cassiicola*, y la secuencia se depositó en GenBank (KM207768). También en este trabajo, en 2014 y 2015 se evaluó el progreso temporal de la enfermedad en comunidades de Ayutla y Tecoaapa, Guerrero. Las incidencias fueron del 100% para hojas y cálices. La severidad máxima fue de 39% para hojas y 67% en cálices. Se observó una asociación entre los periodos de madurez de las hojas y cálices con los incrementos de severidad. Las epidemias en hojas y cálices se caracterizaron en base al modelo de Weibull y el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). El modelo de Weibull describió adecuadamente las epidemias, a juzgar por los coeficientes de determinación calculados, que oscilaron en  $r^2=0.93-0.99$ . Las diferencias entre localidades se determinaron por comparación de las tasas de incremento ( $b^{-1}$ ) y el ABCPE. Las mayores ABCPE y tasas de incremento fueron en San Miguel, y los menores niveles en Xápatláhuac. La severidad se

correlacionó positivamente ( $r=0.40-1$ ) con temperaturas de  $>10^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}$  y humedades relativas  $>80\%$  y  $\leq 100\%$ . El mayor número de horas con temperaturas  $>20^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}\text{C}$ , se asociaron a las comunidades con mayor severidad. Por otra parte, para el control de esta enfermedad se evaluaron sustancias químicas convencionales y alternativas para el control de esta enfermedad. Los experimentos se realizaron en condiciones de campo y presión natural de inóculo. El diseño experimental utilizado fueron bloques al azar. Las sustancias se aplicaron a intervalos de 7 y 14 días. Se registró la severidad en hojas y cálices, y se estimó el peso de cálices en cada unidad experimental. Se realizó un análisis de varianza y pruebas de separación de medias (con ajustes de Tukey-Kramer por multiplicidad, con un nivel de significancia de 0.05). Los productos más efectivos para reducir la severidad de la enfermedad fueron Mancozeb, Clorotalonil y Benomilo + Oxidloruro de cobre, además con estos tratamientos se obtuvo el mayor peso fresco y seco de cálices. Los productos alternativos redujeron de forma moderada la enfermedad.

**Palabras clave:** Patogenicidad, cuantificación de enfermedad, *Hibiscus sabdariffa*, *Corynespora cassicola*.

**LEAVES AND CALYCES SPOTTED OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.):  
ETIOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND MANAGEMENT**

Santo Ángel Ortega Acosta, DC.  
Colegio de Postgraduados, 2016.

**ABSTRACT**

The disease known as spotted of leaves and calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), is currently the main phytosanitary limiting factor for producing this crop in Guerrero. In order to determine the causal agent of this disease, in 2013 symptomatic leaves and calyces were collected. The organs collected were processed in culture medium containing potato-dextrose agar. The identification of the isolated organisms was carried out with taxonomic keys. The identified organisms were *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Leptosphaerulina* sp., and *Corynespora cassiicola*. Tests of pathogenicity resulted in that only the *C. cassiicola* induced similar symptoms to those observed in the field. The pathogenic fungus was confirmed by the amplification of the ITS region, and its sequence was deposited in GenBank (KM207768). Also in this study, in 2014 and 2015, the temporal progress of the disease was evaluated in situ localities, both in Guerrero state. The incidences were 100% on leaves and calyces. The maximum severity was 39% in leaves and 67% in calyces. An association between periods of maturity of the leaves and calyces was observed with increases in severity. Epidemics in leaves and calyces were characterized based on the Weibull model and the area under the disease progress curve (AUDPC). The Weibull model described adequately the epidemics, given that the determination coefficient of the fitted model ranges between  $r^2=0.93-0.99$ . The differences between localities were determined by comparing the rates of increase ( $b^{-1}$ ) and AUDPC. The higher increases in AUDPC and  $b^{-1}$ , are those of San Miguel, and lowest values are those of Xalpatláhuac. The severity correlated positively ( $r=0.40-1$ ) with temperatures  $>10^{\circ}\text{C}$  and  $\leq 30^{\circ}\text{C}$  and relative humidity  $> 80\%$  and  $\leq 100$ . The highest number

of hours with temperatures  $>20^{\circ}\text{C}$  and  $\leq 30^{\circ}\text{C}$ , were associated at localities with higher disease severity. Furthermore, conventional and alternatives chemical substances were evaluated to the disease control. Experiments were performed in field conditions and at natural inoculum pressure. The experimental design is a randomized block. The substances were applied at intervals of 7 and 14 days in leaves and calyxes. The severities were recorded, and the weight of calyxes of each experimental unit was calculated. Analysis of variance and mean separation tests (based on Tukey-Kramer correction for multiplicity, at the significant level of 0.05) were performed. The most effective products to reduce the severity of the disease were Mancozeb, Chlorothalonil and Benomyl + Copper oxychloride, along with these treatments the higher fresh and dry weight of calyxes were observed. Alternative products moderately reduced disease.

**Keywords:** Pathogenicity, quantification of disease, *Hibiscus sabdariffa*, *Corynespora cassicola*.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Colegio de Postgraduados y al Instituto de Fitosanidad, por permitirme realizar mis estudios de doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para realizar mis estudios de doctorado.

Al Dr. Javier Hernández Morales, por su amistad, orientación, dirigir el desarrollo de la presente investigación y apoyo otorgado en todo momento.

Al Dr. Daniel L. Ochoa Martínez, por su amistad, orientación y apoyo para llevar a cabo la presente investigación.

Al Dr. José Antonio Mora Aguilera, por su amistad, apoyo y sugerencias de este trabajo.

Al Dr. Ciro Velasco Cruz, por su amistad, apoyo en los análisis dísticos y sugerencias de esta investigación.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, por su amistad, apoyo y sugerencias de este trabajo.

A la M.C. Victoria Ayala Escobar, por su amistad, apoyo y sugerencias a la presente investigación.

A la Dra. Ma. Yolanda Ruiz Cisneros y su apreciable familia, por la amistad brindada durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

A los Ings. Ignacio Mendoza Castro y Uriel Morales Cruz, por su amistad y apoyo otorgado para realizar los trabajos de campo.

A los Sres. Carmelo Pacheco y Pablo Zamora, por facilitar sus parcelas para establecer los experimentos.

A los productores cooperantes, por permitirme realizar las evaluaciones en sus parcelas de jamaica.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mis padres: Filogonia Acosta y Agustín Ortega, por todo lo que me han dado.

A mis hermanas y hermanos: Concepción, Blanca N., Cira, José L., Candelario, Isaac, Agustín y Francisco.

A mi esposa Olga A. González Olea, por compartir tu vida conmigo y por apoyarme en todo momento.

A mis hijos: Ángel y Adrián, por darme la dicha de ser padre.

A la familia Hinojosa González; Elvia E., Josué M., y mi sobrino Joseph Emmanuel M., por la amistad que nos mantiene unidos y por apoyarme.

**LA PRESENTE INVESTIGACIÓN ESTUVO FINANCIADA POR EL PROYECTO:**

“Validación de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con alta concentración de bioactivos, alto rendimiento y tolerantes a enfermedades, determinación de plagas y enfermedades e innovación de la maquinaria agrícola para una producción sustentable”. Fondo sectorial SAGARPA-CONACYT con clave-163972.



## CONTENIDO

No. Páginas

RESUMEN.....	i
CAPITULO I.....	1
1. INTRODUCCION GENERAL.....	1
Objetivos generales: .....	2
Objetivos particulares: .....	2
2. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1. Origen y descripción general del cultivo.....	3
2.2. Requerimientos agroecológicos.....	3
2.2. Usos y propiedades.....	3
2.3. Producción mundial, nacional y estatal.....	4
2.4. Principales enfermedades de la raíz.....	4
2.4.1. Infecciones por hongos y oomicetos en raíces.....	4
2.5.2.1. Infecciones por hongos.....	5
2.5.2.2. Infecciones por virus.....	5
2.5.2.3. Infecciones por fitoplasmas.....	5
2.5. Importancia social y cultural.....	5
3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
CAPITULO II.....	10
ETIOLOGÍA DEL MACHADO DE HOJA Y CÁLCICES DE JAMAICA ( <i>Hibiscus sabdarriffa</i> L.), EN GUERRERO, MÉXICO.....	10
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
2.1. Sintomatología y muestreo.....	12

2.2. Aislamiento de hongos. ....	13
2.3. Identificación cultural y taxonómica. ....	13
2.4. Pruebas de patogenicidad. ....	14
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
3.1. Sintomatología. ....	15
3.2. Aislamiento de hongos. ....	16
3.3. Identificación cultural y taxonómica. ....	17
3.4. Identificación molecular. ....	19
3.5. Ensayos de patogenicidad. ....	19
4. CONCLUSIONES.....	22
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22
<b>CAPITULO III .....</b>	<b>27</b>
<b>PROGRESO TEMPORAL DEL MANCHADO DE HOJAS Y CÁLCICES DE JAMAICA</b> <b>(<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), EN GUERRERO, MÉXICO.....</b>	<b>27</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>27</b>
1. INTRODUCCION.....	28
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
2.1. Sitios de estudio y variables evaluadas. ....	29
2.2. Análisis del progreso temporal de la enfermedad. ....	31
2.3. Variables ambientales asociadas a la enfermedad. ....	31
3. RESULTADOS Y DISCUSION.....	32
3.1. Análisis del progreso temporal de la enfermedad. ....	32
3.2. Variables ambientales asociadas a la enfermedad. ....	39
4. CONCLUSIONES.....	44
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44

<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>48</b>
<b>CONTROL QUÍMICO DEL MANCHADO DE HOJAS Y CÁLCICES DE JAMAICA (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) EN GUERRERO, MÉXICO.....</b>	<b>48</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>48</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>49</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
<b>2.1. Área de estudio y tratamientos. ....</b>	<b>50</b>
<b>2.2. Programa de aplicaciones.....</b>	<b>51</b>
<b>2.3. Diseño experimental.....</b>	<b>52</b>
<b>2.5. Análisis de datos. ....</b>	<b>53</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>53</b>
<b>4. CONCLUSIONES .....</b>	<b>59</b>
<b>5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....</b>	<b>59</b>

**INDICE DE CUADROS**

**CAPITULO II**

<b>Cuadro1.</b> Localidades muestreadas para determinar el agente causal del manchado de la jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), en el ciclo 2013, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.. .....	12
<b>Cuadro2.</b> Programa de muestreo para determinar el agente causal del manchado de la jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), en el ciclo 2013, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.. .....	13
<b>Cuadro 3.</b> Concentraciones de esporas utilizadas en inoculaciones de plantas de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), en ensayos de patogenicidad en condiciones de invernadero, en 2013. ....	14
<b>Cuadro 4.</b> Frecuencias totales (%) de hongos aislados de hojas y cálices de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) con síntomas de manchado, ciclo 2013, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.. .....	17

**CAPITULO III**

<b>Cuadro 1.</b> Localidades y fechas de siembra en parcelas de jamaica, para evaluar el progreso temporal del manchado de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), en Guerrero. ....	30
--	----

<b>Cuadro 2.</b> Parámetros epidemiológicos correspondientes a los ciclos 2014 y 2015 de la incidencia y severidad del progreso acumulado de la enfermedad manchado de la jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), en Guerrero.....	37
<b>Cuadro 3.</b> Promedio de temperaturas durante los periodos de evaluaciones de incidencia y severidad del manchado de hojas y cálices de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) en 2014 y 2015, en Ayutla y Tecuanapa, Guerrero.. ..	39
<b>Cuadro 4.</b> Número de horas en diferentes rangos de temperaturas y humedades relativas, en parcelas comerciales de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), evaluadas con la enfermedad del manchado, durante los ciclos 2014 y 2015, en Ayutla y Tecuanapa, Guerrero .....	41
<b>Cuadro 5.</b> Correlaciones entre número de horas y humedades relativas con la severidad del manchado de hojas y cálices en jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), inducida por <i>Corynespora cassiicola</i> en diferentes condiciones ambientales de Ayutla y Tecuanapa, Guerrero, durante 2014 y 2015.....	43

#### CAPITULO IV

<b>Cuadro 1.</b> Tratamientos químicos, utilizados para el control del manchado de hojas y cálices en jamaica, inducido por <i>Corynespora cassiicola</i> , en Guerrero.....	50
<b>Cuadro 2.</b> Programa de aplicaciones de productos químicos, para el control del manchado de hojas y cálices de jamaica, en condiciones de campo, en Guerrero.....	51
<b>Cuadro 3.</b> Efecto de la aplicación foliar de productos químicos para el control del manchado de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), en condiciones de campo, durante los ciclos 2014 y 2015 en Ayutla y Tecuanapa, Guerrero.. ..	57
<b>Cuadro 4.</b> Efecto de la aplicación foliar de productos químicos en el peso fresco y seco de cálices, en condiciones de campo en Ayutla y Tecuanapa, Guerrero.. ..	58

#### INDICE DE FIGURAS

##### CAPITULO II

<b>Figura 1.</b> Síntomas del manchado de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.). A) Síntomas en hojas. B) Síntomas en cálices. Ciclo 2013, en Guerrero. ....	16
<b>Figura 2.</b> Características culturales y morfológicas de microorganismos aislados de manchas de hojas y cálices de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.). A y B; colonia y conidios de <i>Corynespora cassiicola</i> en medio PDA. C y D; Colonia, ascas y ascosporas de <i>Leptosphærulina</i> sp., en medio V8-agar. E y F. Colonia y conidios de <i>Colletotrichum</i> sp., G y H; Colonia y conidios de <i>Phomopsis</i> sp., en medio PDA.....	18

**Figura 3.** Síntomas inducidos por *Corynespora cassiicola* en jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) bajo condiciones de invernadero. A, B y C; inoculación artificial en hojas a los 12 días después de la inoculación (ddi) aproximadamente. E, F y G; inoculación artificial en hojas a los 20 ddi aproximadamente. I, J y K; inoculación artificial en cálices a los 12 ddi aproximadamente. M, N y O; inoculación artificial en cálices a los 28 ddi aproximadamente. D y H; control en hojas. L y P; control en cálices. ....20

### CAPITULO III

**Figura 1.** Niveles de la severidad del manchado en hojas y cálices de jamaica. A: 2%; etapas iniciales en hojas (agosto). B. 70%, etapas avanzadas en hojas (noviembre). C: 3%; etapas iniciales en cálices (noviembre). D: 63%; etapas avanzadas en cálices (diciembre). Ciclo 2014.....33

**Figura 2.** Graficas del progreso no acumulado de la enfermedad manchado de hojas y cálices durante 2014 y 2015 en Guerrero. A; progreso no acumulado de la incidencia en hojas. B; progreso no acumulado de la incidencia en cálices.....34

**Figura 3.** Graficas del progreso no acumulado de la enfermedad manchado de hojas y cálices durante 2014 y 2015 en Guerrero. A; progreso no acumulado de la severidad en hojas. B; progreso no acumulado de la severidad en cálices.....35

**Figura 4.** Modelo de Weibull de las curvas del progreso acumulado de la enfermedad del manchado de jamaica durante 2014 y 2015 en Guerrero. COM=comunidades. COT=Cotzálzin. SAN=San Miguel. TEC=Tecantepec y XAL=Xalpatláhuac. A; progreso acumulado de la incidencia en hojas en 2014. B; progreso acumulado de la incidencia en cálices en 2014. C; progreso acumulado de la severidad en hojas en 2014. D; progreso acumulado de la severidad en cálices en 2014. E; progreso acumulado de la incidencia en hojas en 2015. F; progreso acumulado de la incidencia en cálices en 2015. G; progreso acumulado de la severidad en hojas en 2015. H; progreso acumulado de la severidad en cálices en 2015. ....38

## CAPITULO I.

### 1. INTRODUCCION GENERAL

Se estiman alrededor de 300 especies de *Hibiscus* en las zonas tropicales y subtropicales (Akpan, 2006). La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es importante y popular en regiones tropicales y subtropicales de diversos países (Morton, 1987). Su origen es controversial, la hipótesis más aceptada indica que es de África (Gómez-Leyva *et al.*, 2008; CONABIO, 2016). En México, de los cálices deshidratados se elaboran “aguas frescas”, té, mermeladas y otros productos. Se le atribuyen propiedades, por ejemplo; antioxidantes y antihipertensivo (Herrera-Arellano *et al.*, 2007). Además de los cálices, se utilizan para consumo humano otras partes como hojas, tallos tiernos y semillas (Eslaminejad y Zakaria, 2010; Duke *et al.*, 1983). En China a partir de las semillas se extrae aceite. En África occidental las hojas y semillas se utilizan como productos alimenticios. En Europa, la jamaica es demandada en la industria farmacéutica y de saborizantes de alimentos (FAO, 2004).

La jamaica se cultiva en climas tropicales con precipitaciones de 1,500 a 2,000 mm anuales, y prospera desde el nivel del mar hasta los 900 m.s.n.m (Morton, 1987). Tolera los climas cálidos y húmedos. Es susceptible a daños por helada y niebla. Requiere suelos permeables, arenos-arcillosos, y es preferible su cultivo en suelos con alto contenido de humus; sin embargo, se puede adatar a una amplia variedad de suelos. No tolera la sombra y debe mantenerse libre de malezas (Duke, 1983).

Es un cultivo ideal para los países en desarrollo, si la demanda del mercado es favorable (FAO, 2004). Tolera la sequía, y es relativamente fácil de cultivar, y puede formar parte del sistema de cultivos múltiples.

En México, Guerrero es el principal productor de jamaica, en Ayutla y Tecoaapa se cultiva el 60% de la superficie estatal (SIAP, 2015). El sistema que prevalece es la asociación maíz-jamaica, aunque, también es común la incorporación en menor proporción de especies como la calabaza (*Cucurbita* spp.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Los cálices son comercializados principalmente en forma deshidratada, su venta representa una fuente importante de ingresos económicos para las familias productoras.

La jamaica es susceptible a la infección de diversos patógenos, que pueden causar pérdidas en el rendimiento. En México, se encuentra *Phytophthora parasitica* Dastur causante de “pata prieta” (Hernández-Morales y Romero-Cova, 1999) y *Pilidiella diplodiella* Crous & Van Niekerk inductor de la mancha acuosa (Correa *et al.*, 2011), y el amarillamiento asociado a un complejo de virus del género *Begomovirus* (Velázquez- Fernández *et al.*, 2016).

En Guerrero, una enfermedad reciente denominada “manchado de cálices” disminuye el valor comercial debido a su mala apariencia (estética) y en casos extremos ocasiona rechazo de los cálices. En condiciones favorables puede causar pérdidas totales en este cultivo. Por lo anterior, la presente investigación tuvo los siguientes objetivos:

**Objetivos generales:**

- Conocer la etiología y epidemiología de las manchas foliares y de cálices de jamaica, y plantear estrategias para su manejo.

**Objetivos particulares:**

- ✓ Determinar el (los) agente (s) causal (es) de la enfermedad.
- ✓ Caracterizar el progreso temporal de la enfermedad.
- ✓ Evaluar la efectividad biológica de sustancias químicas para su control.

## **2. REVISION DE LITERATURA**

### **2.1. Origen y descripción general del cultivo.**

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una planta dicotiledónea y autógama de la familia Malvaceae y nativa de África (Gómez-Leyva *et al.*, 2008; CONABIO, 2016), de donde fue distribuido al sureste de Asia y América Central (Abdallah, 2016). Presenta crecimiento arbustivo; con tallo liso o casi liso, cilíndrico y generalmente rojo. Puede tener una altura de 80 a 320 cm; hojas simples, lobuladas, con márgenes aserrados; flores, solitarias y axilares; cálices generalmente rojos; el fruto es una cápsula y contiene semillas en forma de riñón (Duke, 1983; Morton, 1987).

### **2.2. Requerimientos agroecológicos.**

La jamaica se cultiva en regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios y requiere de precipitaciones pluviales de 1,500 a 2,000 mm anuales y, altitudes desde el nivel del mar hasta los 900 m.s.n.m (Duke, 1983; Morton, 1987). Dependiendo de la variedad, transcurren entre 150 y 180 días para que los cálices alcancen la madurez (Mukund, 2015).

### **2.2. Usos y propiedades.**

De la jamaica, se aprovecha principalmente los cálices, éstos se obtienen al desprenderlos de su cápsula, utilizados para preparar aguas frescas, té, mermeladas, licores, salsas, jaleas y otros productos (Mgaya-Kilima *et al.*, 2015; Delgado-Vargas y Paredes-Lopez, 2002). Investigaciones recientes han demostrado que los cálices deshidratados pueden reducir la hipertensión arterial en humanos (Herrera-Arellano *et al.*, 2007; McKay *et al.*, 2010). Poseen propiedades antimicrobianas (Morales-Cabrera *et al.*, 2013), y para tratar infecciones urinarias (Alshami y Alharbi, 2014). Los cálices son potentes antioxidantes (Tee *et al.*, 2002), diuréticos, digestivos y sedativos (Akindahunsi y Olaleye, 2003).



También, la jamaica es conocida por poseer compuestos bioactivos, responsables de su eficacia terapéutica, tales como antocianinas, flavonoides, polisacáridos y ácidos orgánicos como málico y ascórbico (Mohamed *et al.*, 2007; Gurrola-Díaz *et al.*, 2010).

### **2.3. Producción mundial, nacional y estatal.**

El principal país productor de jamaica es China, seguido por La India, Sudan, Uganda, Indonesia, Malasia y México (FAO, 2004). En México Guerrero, Oaxaca, Michoacán, Nayarit, Puebla y Campeche son los principales estados productores (SIAP, 2015).

En 2015, 19,980 ha se destinaron a la producción nacional. En Guerrero se sembraron 14,067 ha con un aporte de más del 70%. El rendimiento promedio por hectárea en este estado fue de 320 kg. Los principales municipios en donde se cultivó jamaica fueron Ayutla, Tecoaapa, Juan R. Escudero, San Marcos, Acapulco de Juárez, San Luis Acatlán, Xochistlahuaca, Quechultenago, Coyuca de Benítez y Cuahutepec; el 60% de la superficie estatal cultivada fue en Ayutla y Tecoaapa (SIAP, 2015).

### **2.4. Principales enfermedades de la raíz.**

#### **2.4.1. Infecciones por hongos y oomicetos en raíces.**

El principal patógeno que afecta raíces en jamaica es *Phytophthora parasitica* Dastur (Erwin y Ribeiro, 1990), causal de marchitez, amarillamiento y pudrición de tallo. Este patógeno en México ha sido reportado en jamaica (Hernández-Morales y Romero-Cova, 1990). Otros patógenos importantes son *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Fusarium* spp. y *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Amusa *et al.*, 2005; Hassan *et al.*, 2014; Ortega-Acosta *et al.*, 2015).

## **2.5.2. Principales enfermedades foliares.**

### **2.5.2.1. Infecciones por hongos.**

El hongo *Coniella musaiaensis* var. *hibisci* B. Sutton, fue descrito en Trinidad y Tobago, como causante de pequeñas manchas en hojas que se extienden en grandes lesiones irregulares de color café claro. En la zona de avance se observan picnidios de color negro. El hongo infecta tallos jóvenes o maduros, en donde también forma picnidios. Cuando la infección es severa, puede causar muerte de la planta (Persad y Fortune, 1989). En México, una sintomatología similar fue reportada en Tabasco, y fue denominada “mancha acuosa”, el agente causal fue descrito como *Pilidiella diplodiella* Crous & Van Niekerk (Correa *et al.*, 2011). Por otra parte, en Brasil, se ha reportado a *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei, causante de manchas foliares en hojas de jamaica (Poltronieri *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2014).

### **2.5.2.2. Infecciones por virus.**

En la India se reportó la sintomatología de amarillamiento de nervaduras asociadas a virus del genero *Begomivirus*, con incidencias de más del 90% (Chatterjee *et al.*, 2005). En México se informó la presencia de un complejo de Begomovirus asociados a síntomas de amarillamiento en jamaica, con indecencias de 90 a 100% (Velázquez-Fernández *et al.*, 2016).

### **2.5.2.3. Infecciones por fitoplasmas.**

En Taiwan, un fitoplasma se asoció a desordenes en plantas de jamaica con síntomas de hojas corrugadas y filodia, y fue identificado como ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’, relacionada al grupo 16SrI (Tseng *et al.*, 2014), y en La India (Biswas *et al.*, 2013) reportaron a un fitoplasma del grupo 16SrV-D asociado al síntoma de filodia y enrojecimiento de hojas.

## **2.5. Importancia social y cultural.**

Los principales países productores de jamaica son China, India y Sudán. México ocupó el séptimo lugar. La jamaica tolera la sequía, y es relativamente fácil de cultivar. Puede cultivarse

como parte del sistema de cultivos múltiples. El sistema más común que prevalece en México es la asociación maíz-jamaica. En diversos países se aprovecha el follaje como forraje y fibra. En China de las semillas se extrae aceite y se utiliza en la medicina tradicional por sus propiedades atribuidas. En África las hojas y semillas, se utilizan como productos alimenticios. En Europa la jamaica se aprovecha en la industria farmacéutica y como saborizante de alimentos (FAO, 2004).

En México, la jamaica representa gran importancia, y se usa principalmente para elaborar bebidas (aguas frescas). Un mínimo porcentaje de la producción se destina a la industria. Se estima que aproximadamente 11,350 familias dependen directamente del cultivo de la jamaica (Fundación Produce de Guerrero, 2012; COFUPRO, 2016).

### 3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdallah EM. 2016. Antibacterial efficiency of the sudanese roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), a famous beverage from Sudanese folk medicine. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 5 (2): 186-190. <https://doi.org/10.5455/jice.20160320022623> .

Akindahunsi AA, Olaleye MT. 2003. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. *J Ethnopharmacol.*:89(1):161-4. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741\(03\)00276-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741(03)00276-9).

Akpan GA. 2006. HIBISCUS- *Hibiscus rosa-sinensis* pp-479-489. In: Anderson NO. 2006. Ed. Flower breeding and genetics: issues, challenges and opportunities for the 21st Century. California, springer. 824 p. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-4428-1\\_17](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-4428-1_17) .

Alshami I and Alharbi AE. 2014. Antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* extract against uropathogenic strains isolated from recurrent urinary tract infections. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 4(4): 317–322. [https://doi.org/10.1016/s2222-1808\(14\)60581-8](https://doi.org/10.1016/s2222-1808(14)60581-8) .

Biswas C, Dey P, Satpathy S, Kumar M, Satya P and Mahapatra. BS.2013. Molecular identification of a Candidatus phytoplasma (Group16SrV-D) coding partial *uvrB* gene and *degV* gene on a new host – mesta (*Hibiscus sabdariffa*) – with phyllody and reddening of leaves in India.

*Phytoparasitica* 41: 539-543. doi:10.1007/s12600-013-0314-0.  
<https://doi.org/10.1007/s12600-013-0314-0> .

Chatterjee AA, Roy KV, Padmalatha V, Malathi G and Ghosh SK. 2005. Occurrence of a *Begomovirus* with yellow vein mosaic disease of mesta (*Hibiscus cannabinus* and *Hibiscus sabdariffa*). *Australasian Plant Pathology* 34: 609-610. <https://doi.org/10.1071/ap05062>

COFUPRO. 2016. Producción de jamaica en México. [http://www.cofupro.org.mx/cofupro/cofupro\\_web.php?idseccion=1178](http://www.cofupro.org.mx/cofupro/cofupro_web.php?idseccion=1178) .

CONABIO. 2016. Disponible en: [http://naturalista.conabio.gob.mx/taxa/hibiscus\\_sabdariffa](http://naturalista.conabio.gob.mx/taxa/hibiscus_sabdariffa). Fecha de consulta; agosto/2016.

Correa SE, Ortiz GCF, Torres de la CM, Bautista MCC, Rivera CMC, Lagunes ELC y Hernández SJH. 2011. Etiología de la mancha acuosa de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Tabasco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29:165-167. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v29n2/v29n2a8.pdf>.

Delgado-Vargas F and Paredes-Lopez O. 2002. Natural Colorants for food and nutraceutical uses. CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9781420031713>.

Duke AJ. 1983. *Hibiscus sabdariffa* L. Handbook of Energy Crops. unpublished. Disponible en: [https://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke\\_energy/Hibiscus\\_sabdariffa.html](https://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Hibiscus_sabdariffa.html). Consultado en octubre, 2016.

Erwin DC and Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. *The American Phytopathological Society*. St. Paul, Minnesota, USA. 562 p.

Eslaminejad T and Zakaria M. 2011. Morphological characteristics and pathogenicity of fungi associated with roselle (*Hibiscus sabdariffa*) diseases in Penang, Malaysia. *Microbial Pathogenesis* 51: 325-337. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2011.07.007>.

Fundación Produce de Guerrero. 2012. Jamaica. Agenda de innovación 2012 / Guerrero. 10 p.

Gómez-Leyva JF, Martínez-Acosta IA, López-Muraira IG, Silos-Espino H, Ramírez-Cervantes F and Andrade-González I. 2008. Multiple shoot regeneration of roselle (*Hibiscus*

*sabdariffa* l.) from a shoot apex culture system. *International Journal of Botany* 4: 326-330. <http://dx.doi.org/10.3923/ijb.2008.326.330> .

Gurrola-Díaz CM, García-López PM, Sánchez-Enríquez S, Troyo-Sanromán R, Andrade-González I and Gómez-Leyva JF. 2010. Effects of *Hibiscus sabdariffa* extract powder and preventive treatment (diet) on the lipid profiles of patients with metabolic syndrome (MeSy). *Phytomedicine* 17(7): 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.10.014> .

Hassan N, Shimizu M and Hyakumachi M. 2014. Occurrence of root rot and vascular wilt diseases in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Upper Egypt. *Mycobiology* 42(1): 66-72. <https://doi.org/10.5941/myco.2014.42.1.66>

Hernández MJ y Romero CS. 1990. Identificación del agente causal de “pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)” y pruebas de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. *Revista Chapingo* (67-68):50-54.

Herrera-Arellano A, Miranda-Sánchez J, Avila-Castro P, Herrera-Alvarez S, Jiménez-Ferrer JE, Zamilpa A., Román-Ramos R., Ponce-Monter H and Tortoriello J. 2007. Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, double-blind, lisinopril-controlled clinical trial. *Planta Med.* 73(1):6-12. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957065>

McKay DL, Chen CY, Saltzman E and Blumberg JB 2010. *Hibiscus sabdariffa* L. tea (tisane) lowers blood pressure in prehypertensive and mildly hypertensive adults. *J. Nutr.* 140(2):298-303. <https://doi.org/10.3945/jn.109.115097>

Mgaya-Kilima B, Remberg SF, Chove BE and Wicklund T. 2015. Physicochemical and antioxidant properties of roselle-mango juice blends; effects of packaging material, storage temperature and time. *Food Science & Nutrition: 3*(2), 100–109. <http://doi.org/10.1002/fsn3.174>.

Mohamed R, Fernández J, Pineda M and Aguilar M. 2007. Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) seed oil is a rich source of gamma-tocopherol. *J Food Sci.* 72(3): 207–211. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00285.x>

- Morales-Cabrera M, Hernández-Morales J, Rúelas GL, Moreno YS, Soto-Rojas L, Rosas JC. 2013. Influence of variety and extraction solvent on antibacterial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyxes. *J Med Plants Res* 7 (31):2319-2322. <https://doi.org/10.5897/jmpr12.1242>
- Morton FJ. 1987. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). In: Fruits of warm climates, ed. C.F. Dowling Jr. Creative Resources Systems, Inc. Miami, Florida.
- Mukund J. 2015. Textbook of field crops. Edit. PHI Learning Limited. 580 p.
- Persad C and Fortune M. 1989. A new disease of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa*) cause by *Coniella musaiaensis* var. *hibisci* from Trinidad and Tobago. *Plant Pathology* 38: 615-617. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1989.tb01460.x>
- Poltronieri TPS., Poltronieri LS., Verzignassi JR., Benchimol RL., and Carvalho EA. 2012. Vinagreira: novo hospedeiro de *Corynespora cassiicola* no Pará. *Summa Phytopathologica* 38 (2): 167. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052012000200013>.
- SIAP. 2015 Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola. Dirección electrónica: [http://infosiap.siap.gob.mx/agricola\\_siap\\_gb/icultivo/index.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/agricola_siap_gb/icultivo/index.jsp).
- Silva GS, Rego AS and Leite RR. 2014. Doenças da vinagreira no Estado do Maranhão. *Summa phytopathol.* 40 (4): 378-380. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2002>.
- Tee P., Yusof S and Suhaila M. 2002. Antioxidative properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in linoleic acid model system. *Nutr Food Sci.* 32:17–20.
- Tseng YW, Chang CJ, Chen JW, Deng WL and Jan FJ. 2014. First report of a 16sri group phytoplasma associated with roselle (*Hibiscus sabdariffa*) wrinkled leaves and phyllody disorder in Taiwan. *Plant Disease* 98 (7): 991. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-12-13-1256-PDN>.
- Velázquez-Fernández P, Zamora-Macorra EJ, OchoaMartínez DL, Hernández-Morales J. 2016. Virus asociados al amarillamiento de *Hibiscus sabdariffa* en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 200-207. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1602-1>.

## CAPITULO II

### ETIOLOGÍA DEL MACHADO DE HOJA Y CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.), EN GUERRERO, MÉXICO

#### RESUMEN

En parcelas comerciales de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, en 2013 se colectaron hojas y cálices con síntomas de manchado, de septiembre a diciembre. Adicionalmente se colectaron tejidos asintomáticos como control. Se realizaron aislamientos en medio de cultivo papa-dextrosa-agar. Los hongos aislados fueron *Leptosphaerulina* sp., *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., y *Corynespora cassiicola*, este último fue aislado consistentemente de hojas y de cálices con síntomas, además fue el único que se aisló en alta frecuencia (> 70%). De tejido asintomático, se aisló a *Colletotrichum* sp., y *Phomopsis* sp. Las pruebas de patogenicidad fueron realizadas en invernadero en plantas sanas de jamaica. Después de 12 días, únicamente *Corynespora cassiicola* indujo síntomas similares a los observados en campo. El organismo, fue re-aislado a partir de los síntomas inducidos e identificado con claves taxonómicas y moleculares como *Corynespora cassiicola*. Para confirmar la identidad del microorganismo patogénico, se amplificó la región ITS del microorganismo con el uso de primers ITS-4 e ITS-5. La secuencia consenso reveló 100% de identidad con otros aislados de *Corynespora cassiicola* en GenBank. La secuencia consenso se depositó en el GenBank con el número de acceso (KM207768). En base a los análisis morfológicos, patogénicos y moleculares, el agente causal del manchado de hojas y cálices de jamaica es el hongo *Corynespora cassiicola*.

**Palabras clave:** *Hibiscus sabdariffa*, *Corynespora cassiicola*, patogenicidad.

## INTRODUCCIÓN

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), es un cultivo de importancia económica para México, alrededor de 19,000 ha se destinan anualmente para su producción. En Guerrero se estima más del 70% de la superficie a nivel nacional (SIAP, 2015).

Entre las principales limitantes sanitarias destaca *Phytophthora parasitica* causante de pudriciones radicales en África, Costa de Marfil, Malasia, Filipinas, Puerto Rico (Erwin y Ribeiro, 1996) y México (Hernández-Morales y Romero-Cova, 1990).

Existen pocos reportes de patógenos foliares de jamaica. En Trinidad y Tobago *Coniella musaiaensis* causa manchas de hojas y muerte de plantas (Persad y Fortune, 1989). En México, Correa *et al.* (2011), reportaron a *Pilidiella diplodiella* como causante de “mancha acuosa”, sintomatología similar a la descrita por Persad y Fortune (1986). En Brasil, *Corynespora cassiicola* causa manchas foliares (Silva *et al.*, 2014; Poltronieri *et al.*, 2012).

Recientemente, en la principal zona productora de Guerrero, se detectó una enfermedad de etiología desconocida en este cultivo y ampliamente distribuida. Los síntomas consisten de manchas en hojas y cálices, que al coalescer forman lesiones circulares o irregulares, cuando se presenta en cálices afecta la comercialización debido a su mala apariencia.

En Guerrero *Leptosphaerulina americana* (Ellis & Everh.) J.H. Graham & Luttr., *Corynespora cassiicola*, *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk, *Cercospora* sp., y *Phomopsis* sp., se asocian al manchado de hojas (Hernández-Morales *et al.*, 2006); en el mismo estado, Martínez-Sánchez (2010) reportó a *Coniella musaiaensis* var. *hibisci* B. Sutton, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei y *Phomopsis* sp., como hongos asociados al manchado de cálices. En los últimos años esta enfermedad ha incrementado su incidencia y severidad, y puede causar pérdidas significativas



a la producción de este cultivo. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar el agente (s) causal (s) de las manchas de hojas y cálices de jamaica en Guerrero, México.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Sintomatología y muestreo.

El presente estudio se realizó en parcelas comerciales del cultivar “criollo”, con gradientes altitudinales definidos y ubicados en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, en el ciclo 2013 (Cuadro 1).

**Cuadro1.** Localidades muestreadas para determinar el agente causal del manchado de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en el ciclo 2013, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.

Municipio	Comunidad	Coordenadas	Altitud (m.s.n.m)
Tecoanapa	Pueblo largo	16°59'30.93"N, 99°15'14.20"O	431
Tecoanapa	Cruz quemada	16°59'14.17"N, 99°10'26.41"O	349
Tecoanapa	Xalpathahuac	17° 0'22.89"N, 99°19'44.66"O	691
Ayutla	Tepango	16°53'37.92"N, 99° 5'11.54"O	306
Ayutla	San miguel	16°59'20.57"N, 99° 5'54.66"O	392
Ayutla	Cotzálzin	16°54'7.98"N, 99° 5'52.17"O	298

Se colectaron hojas y cálices enfermos y asintomáticos. Los muestreos se realizaron en parcelas con antecedentes de la enfermedad, en etapas de crecimiento vegetativo, floración, desarrollo y madurez de cálices. El material vegetal colectado se trasladado al laboratorio del Colegio de Postgraduados, para el aislamiento de hongos y caracterización de síntomas.

**Cuadro2.** Programa de muestreo para determinar el agente causal del manchado de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en el ciclo 2013, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.

Muestreo	Fecha	Material recolectado
1	Del 2 al 3 de septiembre	Hojas
2	Del 1 al 2 de octubre	Hojas
3	Del 1 al 2 de noviembre	Hojas
4	Del 14 al 15 de noviembre	Cálices
5	Del 2 al 3 de diciembre	Cálices
6	Del 16 al 17 de diciembre	Cálices

## 2.2. Aislamiento de hongos.

Los aislamientos se realizaron a partir de hojas y cálices sintomáticos. En cada localidad muestreada se seleccionaron 16 fragmentos de aproximadamente 0.5 cm con síntomas típicos de la enfermedad por fecha de muestreo. El tejido se desinfectó superficialmente con hipoclorito de sodio al 1%/1 min, posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, eliminó el exceso de humedad con sanitas estériles y transfirieron a cajas Petri, con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA); como control negativo, se procesaron 24 fragmentos por fecha de muestreo.

Las cajas Petri se incubaron a 25°C (Riossa-E51<sup>®</sup>). Después de una semana, las colonias desarrolladas se transfirieron a nuevos medios de cultivos PDA y se purificaron por punta de hifa y cultivos monospóricos. La frecuencia de los hongos aislados se calculó con la fórmula: Frecuencia (%)= número de fragmentos que coloniza un hongo/total de fragmentos x 100 (Rajput *et al.*, 2010).

## 2.3. Identificación cultural y taxonómica.

Para la identificación morfológica se utilizaron las claves taxonómicas de Wei, (1950), Ellis (1971), Hanlin (1998) y, Barnett y Hunter (2006).

## 2.4. Pruebas de patogenicidad.

Colonias fungosas de dos (*Colletotrichum* sp. y *Corynespora cassiicola*) y tres (*Phomopsis* sp., *Leptosphaerulina* sp.) desarrolladas en PDA y V-8 agar, respectivamente, se inocularon a cuatro densidades de inóculo (Cuadro 3) en plantas sanas de jamaica de cuatro meses de edad. Cada microorganismo fue asperjado con un atomizador manual de forma independiente en diez hojas y cálices/planta, en 15 plantas. En plantas control se asperjó agua destilada estéril en cinco hojas y cálices/plantas, en un total de diez plantas. Las plantas se mantuvieron en invernadero. La temperatura y humedad relativa se registró con un datalogger digital (Extech®-Rht10).

**Cuadro 3.** Concentraciones de esporas utilizadas en inoculaciones de plantas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en ensayos de patogenicidad en condiciones de invernadero, en 2013.

Hongo inoculado	Esporas/mL	Referencias
<i>Colletotrichum</i> sp.	$1 \times 10^6$	MacKenzie <i>et al.</i> (2008)
<i>Leptosphaerulina</i> sp.	$1 \times 10^4$	Olanya y Campbell (1990)
<i>Corynespora cassiicola</i>	$2 \times 10^5$	Kwon y Park (2003)
<i>Phomopsis</i> sp.	$1 \times 10^6$	Dai <i>et al.</i> (2012)

## 2.5. Identificación molecular.

El hongo aislado con mayor frecuencia de hojas y cálices con síntomas de manchado y que resultó patogénico, se identificó también por técnicas moleculares. El ADN se extrajo a partir de cuatro aislamientos representativos mediante el método AP (Alkaline Phosphatase) propuesto por Sambrook y Russel (2001), con algunas modificaciones (uso de balines en la maceración) para este estudio.

La regio ITS (Internal Transcribed Spacer) 1 y 2 fue amplificada por PCR con los primers: ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') y el ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAA-3') (White, 1990). La mezcla de PCR consistió de: 2.5 µl de Buffer, MgCl<sub>2</sub> 1.25 µl, dNTP's 0.5 ul (Promega®), Primer; forwar 1 µl y reverse 1 µl, agua ultra-pura estéril 16.25 µl, Taq DNA-polimerasa 0.5 µl, cDNA 2 ul. La mezcla final obtenida de 25 µL, se amplificó en un termociclador (Techne-TC-512®), con el siguiente programa; desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos (min), seguido de 30 ciclos a 95 °C por 45 min para la desnaturalización, hibridación a 57 °C por 45 segundos (seg), extensión de 72 °C por 1 min, extensión final de 72 °C por 5 min y una temperatura final de refrigeración de 10 °C.

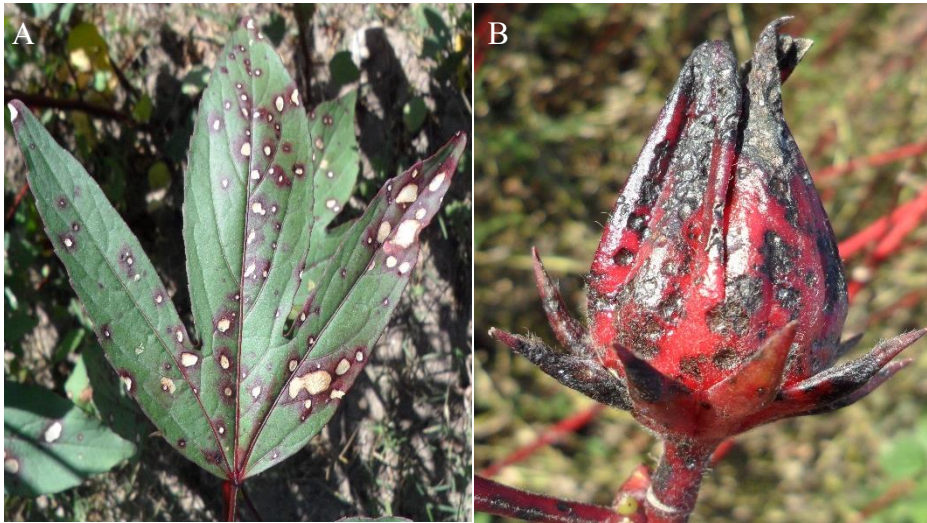
Los productos de PCR se purificaron con el kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega®) según protocolo del fabricante, y secuenciaron en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBt-UNAM).

Con las secuencias obtenidas se generó una secuencia consenso por alineamiento (forward y reverse) con DNABaser® Ver. 2.1., y se comparó en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI), EE.UU., con la herramienta BLASTN 2.2.26 (Zhang *et al.*, 2000). La secuencia consenso se depositó en el GenBank.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1. Sintomatología.**

En hojas, los síntomas consistieron de manchas circulares o irregulares con centros color pajizo, bordes negros y halos púrpuras. En estados avanzados coalescieron en extensas lesiones necróticas (Figura 1A). Los cálices infectados presentaron manchas hundidas de formas circulares a irregulares. En estados avanzados de infección se originó un atizonamiento en la parte apical de los cálices, y se extendió hacia la base de los mismos (Figura 1B).



**Figura 1.** Síntomas del manchado de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). A) Síntomas en hojas. B) Síntomas en cálices. Ciclo 2013, en Guerrero.

### 3.2. Aislamiento de hongos.

En cada fecha de muestreo se procesaron 96 fragmentos de tejidos con síntomas y 24 como control para hojas y cálices. En hojas y cálices a partir de 576 fragmentos con síntomas, se aisló a *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Leptosphaerulina* sp., y *Corynespora cassiicola*, este último se obtuvo con mayor frecuencia (>70%). En cálices solo se aisló a *Phomopsis* sp. y *C. cassiicola*, y consistentemente *C. cassiicola* se aisló con el mayor porcentaje. En las muestras control (144 fragmentos), en hojas se aisló a *Colletotrichum* sp., y *Phomopsis* sp., en cálices sólo se aisló a *Phomopsis* sp. En más del 70% de los casos, en hojas y cálices no hubo desarrollo de microorganismos (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Frecuencias totales (%) de hongos aislados de hojas y cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con síntomas de manchado, ciclo 2013, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.

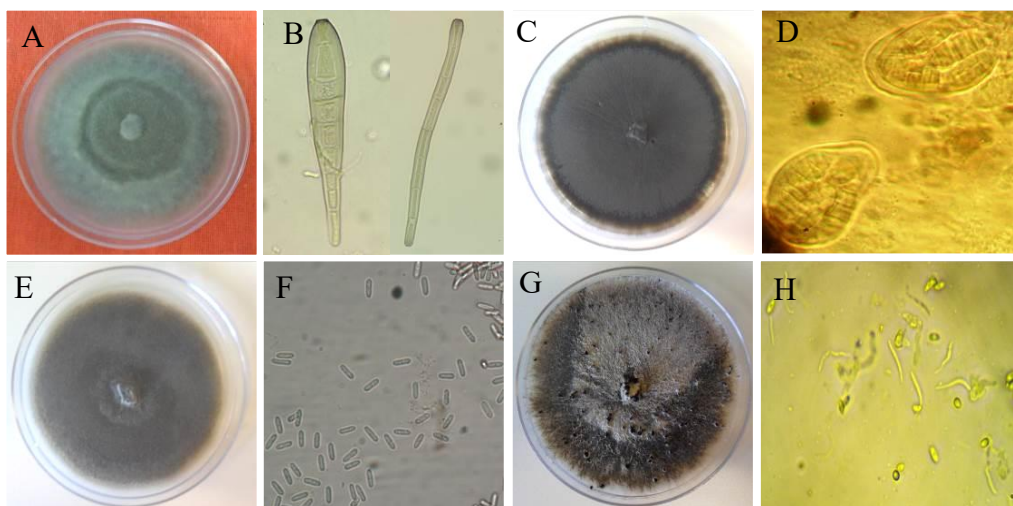
Localidad	Hojas					Cálices				
	Cc <sup>‡</sup>	Col	Lep	Pho	Sd	‡Cc	Col	Lep	Pho	Sd
Pueblo Largo	85.4	8.3	0	0	6.3	72.9	0	0	22.9	4.2
Xalpatláhuac	72.9	2.1	6.3	12.4	6.3	77.1	0	0	18.8	4.1
Cruz Quemada	79.2	6.6	4.5	5.3	4.4	87.5	0	0	2.1	10.4
Tepango	75.0	8.5	2.1	6.2	8.2	72.9	0	0	8.3	18.8
San Miguel	77.1	10.4	0	8.3	4.2	86.5	0	0	10.4	3.1
Cotzálzin	83.3	12.5	0	2.1	2.1	81.3	0	0	6.2	12.5
Control	0	9.7	0	16.7	73.6	0	0	0	27.8	72.2

<sup>‡</sup>Cc=*Corynespora cassiicola*, Col=*Colletotrichum* sp., Lep=*Leptosphærulina* sp., Pho=*Phomopsis* sp., Sd= Sin desarrollo.

### 3.3. Identificación cultural y taxonómica.

Los hongos aislados de hojas y cálices de jamaica fueron; 1) *Corynespora cassiicola* (Berk. & M. A. Curtis) C. T. Wei. El hongo formó colonias grises a verdosas; conidióforos rectos a ligeramente curvos, no ramificados, de color marrón oliváceo; conidios midieron de 34.7-218.4 x 7.4-17.6 µm (largo x ancho), de formas obclavadas a cilíndricas, rectos o ligeramente curvos, de subhialins a oliváceos, y con dos a 13 pseudoseptos (Figura 2, A y B). Características distintivas de *C. cassiicola* (Wei, 1950) y (Ellis, 1971). 2) *Leptosphærulina* McAlpine. En medio V8-agar presentó colonias oscuras; con pseudotecios inmersos; ascas ostiolados, de paredes gruesas y color marrón; ascas bitunicadas, en forma de saco de 75-82 x 28-51 µm, con 8 ascosporas; ascosporas hialinas, de forma oblongas a cilíndricas, dictiosporas y segmentadas longitudinalmente de 30-33 x 11 µm (Figura 2, C y D), características que coinciden para el género *Leptosphærulina*

(Hanlin, 1990). 3) *Colletotrichum* Corda. Las colonias en PDA fueron grises oscuros, con abundante micelio aéreo. Las colonias mostraron masas de conidios color naranja esparcidos en la superficie del medio de cultivo; conidios unicelulares, hialinos, cilíndricos, redondeados en ambos extremos, y con rangos de 13.2-17.9 x 3.4-6.6  $\mu\text{m}$  (Figura 2, E y F), características distintivas de *Colletotrichum* de acuerdo a Barnett y Hunter, 2006. 4) *Phomopsis* (Sacc.) Sacc. En medio PDA formó colonias blancas y posteriormente obscurecieron; con picnidios alargados, generalmente con un ostiolo y de marrón a oscuro y con paredes gruesas; conidióforos ramificados y con septos; conidios alfa y beta conidios; alfa-conidios hialinos, en su mayoría elipsoides y midieron de 4-8 x 1.5-3.4  $\mu\text{m}$  y sin septos, beta-conidios, sin septos, hialinos, filiformes y terminación en forma de gancho, con dimensiones de 17.1-33.3 x 1.5-2.8  $\mu\text{m}$  (Figura 2, G y H), características consistentes para este género (Barnett y Hunter, 2006).



**Figura 2.** Características culturales y morfológicas de microorganismos aislados de manchas de hojas y cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). A y B; colonia y conidios de *Corynespora cassiicola* en medio PDA. C y D; Colonia, ascas y ascosporas de *Leptosphaerulina* sp., en medio V8-agar. E y F. Colonia y conidios de *Colletotrichum* sp., G y H; Colonia y conidios de *Phomopsis* sp., en medio PDA.

### **3.4. Identificación molecular.**

En base a la región amplificada (ITS) de los aislamientos fúngicos; H1=aislado de hojas, H2=re-aislado de hojas, H3=aislado de cálices y HS=aislado de cálices con síntomas de manchado, se obtuvo una secuencia consenso de 504 pares de bases. La comparación mediante una búsqueda (BLAST) en GenBank reveló 100% de identidad con otros aislamientos de *Corynespora cassiicola*, por ejemplo; FJ852592 aislado de *Plectranthus barbatus* Andrews y FJ852665 aislado de *Vigna unguiculata* (L.) Walp., provenientes de Samoa Americana y República de Palaos respectivamente (Dixon *et al.*, 2009), lo que confirmó la identidad del hongo como *C. cassiicola*. La secuencia consenso se depositó en GenBank con el número de acceso KM207768.

### **3.5. Ensayos de patogenicidad.**

En invernadero, el promedio de temperatura y humedad relativa fue de 25°C y 74%, respectivamente. En estas condiciones ambientales, las plantas inoculadas con *Corynespora cassiicola* manifestaron síntomas típicos del manchado en hojas y cálices (Figura 2) a los 12 días después de la inoculación (ddi). En estados avanzados de infección (28 ddi), se formó un atizonamiento en la parte apical de los cálices y se extendió hacia la base de los mismos. El hongo fue re-aislado de los síntomas inducidos en hojas y cálices. Las claves taxonómicas y moleculares indicaron que el hongo correspondió a *C. cassiicola*, por lo que se cumplieron con los postulados de Koch.

En México, *Corynespora cassiicola* fue reportado por Hernández-Morales *et al.* (2006) y Martínez-Sánchez (2010) como organismo asociado al manchado de hojas y cálices de jamaica, respectivamente. También, Ruiz-Ramírez *et al.* (2015), lo detectaron asociado a cálices deshidratados de jamaica con síntomas de manchado. En Sierra Leona, *C. cassiicola* fue aislado en esta especie por Wei (1950); sin embargo, este autor no hace referencia si se trata de un patógeno.





**Figura 3.** Síntomas inducidos por *Corynespora cassicola* en jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) bajo condiciones de invernadero. A, B y C; inoculación artificial en hojas a los 12 días después de la inoculación (ddi) aproximadamente. E, F y G; inoculación artificial en hojas a los 20 ddi aproximadamente. I, J y K; inoculación artificial en cálices a los 12 ddi aproximadamente. M, N y O; inoculación artificial en cálices a los 28 ddi aproximadamente. D y H; control en hojas. L y P; control en cálices.

En Brasil, Poltronieri *et al.* (2012) y Silva *et al.* (2014), informaron que *C. cassiicola* causa síntomas en hojas de jamaica, similares a los descritos en el presente estudio. No obstante, no se había reportado como patógeno de cálices. En el presente estudio se demostró su capacidad patogénica en ambos órganos de esta planta.

El hongo *C. cassiicola* se ha reportado en hojas, tallos, frutos o raíces en más de 350 especies de plantas, principalmente en países tropicales y subtropicales (Farr y Rossman, 2016). Es patógeno de cultivos importantes como; algodón (*Gossypium hirsutum* L.) (Jones, 1961), árbol del caucho (*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex A. Juss.) Müll. Arg.) (Wei, 1950), jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Mohanty y Mohanty, 1955), soya (*Glycine max* L.) (Seaman y Shoemaker, 1964), pepino (*Cucumis sativus* L.) (Blazquez, 1967), papaya (*Carica papaya* L.) (Norse, 1974), entre otros (Farr y Rossman, 2016).

En México, *C. cassiicola* se ha informado en especies como jitomate y chile (*Capsicum annum* L.) (Castro, 1971; Tun Suárez *et al.*, 2011). En otros países, este hongo ha causado pérdidas económicas en cultivos como soya, algodón y árbol del caucho (Conner *et al.*, 2013; Deon *et al.*, 2014; Galbieri *et al.*, 2014; Butler *et al.*, 2016; Godoy *et al.*, 2016).

En plantas inoculadas con *Leptosphaerulina* sp., *Colletotrichum* sp., y *Phomopsis* sp., y agua destilada estéril, no se observó la presencia de síntomas.

Los hongos que no indujeron síntomas, estos géneros, se han reportado como endófitos de diversas plantas, por ejemplo; *Leptosphaerulina crassiasca* (Séchet) C.R. Jacks. & D.K. Bell, *Colletotrichum* sp., *Glomerella cingulata* y *Phomopsis* sp., fueron aislados de tejidos asintomáticos en *Arachis hypogaea* (Suryayanayanan y Murali, 2006). También, Rakotonirian *et al.* (2008), aislaron a *Leptosphaerulina* sp., *Colletotrichum* spp., y *Phomopsis* sp en tejido asintomático de *Centella asiatica* (L.) Urb. Además, *Colletotrichum gloesporioides* (*Glomerella*

*cingulata*) y *Phomopsis longicolla* fueron aislados de jamaica, como posibles endófitos (Ortega-Acosta *et al.*, 2015). Lo que coincide con lo obtenido en el presente estudio.

#### 4. CONCLUSIONES

A partir de síntomas de manchado de hojas y cálices de jamaica, se aisló a *Lepthosphaerulina* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., y *Corynespora cassiicola*. Los análisis de patogenicidad, taxonómicos y moleculares indicaron que *Corynespora cassiicola* es el agente causal del manchado de hojas y cálices de jamaica en Guerrero, México.

#### 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barnett LH and Hunter BB. 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218p.
- Blazquez CH.1967. *Corynespora* leaf spot of cucumber. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 80:177–182. Disponible en: [http://fshs.org/proceedings-o/1967-vol-80/177-182%20\(BLAZQUEZ\).pdf](http://fshs.org/proceedings-o/1967-vol-80/177-182%20(BLAZQUEZ).pdf).
- Butler S, Young-Kelly H, Raper T, Cochran A, Jordan J, Shrestha S, Lamour K, Mengistu A, Rocha AC and Shelby P. 2016. First report of target spot caused by *Corynespora cassiicola* on cotton in Tennessee. *Plant Dis.* 100(2): 535. <https://doi.org/10.1094/pdis-07-15-0785-pdn>.
- Castro MAS 1979. Leaf blight caused by *Corynespora*: a new disease on cucumber (*Cucumis sativus*) in the Valley of Culiacan, Sinaloa, Mexico and its chemical control. *Plant Dis. Rep.* 63(7): 599-60.
- Conner KN, Hagan AK, and Zhang L. 2013. First report of *Corynespora cassiicola*-incited target spot on cotton in Alabama. *Plant Dis.* 97: 1379. <https://doi.org/10.1094/pdis-02-13-0133-pdn>.

- Dai FM, Zeng R and Lu JP. 2012. First report of twig canker on peach caused by *Phomopsis amygdali* in China. *Plant Dis.* 96:288. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-04-11-0321>.
- Deon M, Fumanal B, Gimenez S, Bieysee D, Oliveira RR, Shuib SS, Breton F, Elumalai S, Vida JV, Seguin M, Leroy T, Roeckel-Drevet P and Pujade-Renaud V. 2014. Diversity of the cassiicolin gene in *Corynespora cassiicola* and relation with the pathogenicity in *Hevea brasiliensis*. *Fungal Biol.*:118(1):32-47. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.10.011>.
- Dixon LJ, Schlub RL, Pernezny K and Datnoff LE. 2009. Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 99: 1015-1027. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-99-9-1015>.
- Ellis MB. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew, Surrey, England.
- Erwin DC and Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. *The American Phytopathological Society*. St. Paul, Minnesota, USA. 562 p.
- Farr DF and Rossman AY. 2016. Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory. ARS. USDA. Disponible en: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. Consultado en noviembre de 2016.
- Galbieri R, Araújo DCEB, Kobayashi L, Giroto L, Matos JN, Marangoni MS, Almeida WP and Mehta YR. 2014. *Corynespora* leaf blight of cotton in Brazil and its management. *American Journal of Plant Sciences* 5: 3805-3811. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.526398>.
- Godoy VC, Utiamada CM, Meyer MC, Campos HD, Pimenta DS, Miguel-Wruck CB and Borges EP. 2016. Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo, *Corynespora cassiicola*, na safra 2015/16: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. *Circular Técnica*, 120. *Embrapa Soja, Londrina*. 6 p.
- Hanlin RT. 1998. Illustrated Genera of Ascomycetes, Volume I. 263 p.

- Hernández MJ y Romero CS. 1990. Identificación del agente causal de "pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.)" y pruebas de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. *Revista Chapingo* (67-68):50-54.
- Hernández-Morales J, Ayala-Escobar V, Ordoñez-Joachin MM y Alanis-Martínez EI. 2006. Etiología del síntoma ojo de gallo del follaje de jamaica en Guerrero, México", *Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Fitopatología* pp.93-93.
- Jones JP. 1961. A leaf spot of cotton caused by *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology*: 51: 305-308.
- Kwon JH Park CS. 2003. Leaf spot of cotton rose caused by *corynespora cassiicola* in Korea. *Mycobiology* 31(1):57-59. <http://dx.doi.org/10.4489/MYCO.2003.31.1.057>.
- MacKenzie SJ, Mertely JC, Seijo TE and Peres NA. 2008. *Colletotrichum fragariae* is a pathogen on hosts other than strawberry. *Plant Dis.* 92:1432-1438. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-92-10-1432>.
- Martinez-Sanchez C. 2010. Etiología e incidencia de hongos asociados al manchado de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) En Guerrero, México. Maestría, Colegio de Postgraduados. 101 p.
- Mohanty NN and Mohanty NW. 1955. Target spot of tomatoes. *Science and Culture* 21: 330-332.
- Norse D.1974. Plant Diseases in Barbados. *Phytopathol. Pap.* 18: 1-38.
- Olanya OM and Campbell CL. 1990. Isolate Characteristic and epidemic components of *Leptosphaerulina* leaf spots on alfalfa and white clover. *Phytopathology* 80: 1278-1282. <https://doi.org/10.1094/phyto-80-1278>.
- Ortega-Acosta SA, Hernández-Morales J, Sandoval-Islas JS, Ayala-Escobar V, Soto-Rojas L y Alejo-Jaimes A. 2015. Distribución y frecuencia de organismos asociados a la enfermedad "pata prieta" de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en Guerrero, México. *Revista*

*Mexicana de Fitopatología* 33: 173-194. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092015000200173](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000200173).

Persad C and Fortune M. 1989. A new disease of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa*) cause by *Coniella musaiaensis* var. *hibisci* from Trinidad and Tobago. *Plant Pathology* 38: 615-617. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1989.tb01460.x>.

Poltronieri TPS, Poltronieri LS, Verzignassi JR, Benchimol RL and Carvalho EA. 2012. Vinagreira: novo hospedeiro de *Corynespora cassiicola* no Pará. *Summa Phytopathologica* 38 (2): 167. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052012000200013>.

Rajput NA., Pathan MA., Rajput AQ., Jiskani MM., Lodhi AM., Rajput SA, et al. 2010. Isolation of fungi associated with shisham trees and their effect on seed germination and seedling mortality. *Pakistan Journal of Botany* 42(1): 369-74.

Rakotoniriana EF, Munaut F, Decock C, Randriamampionona D, Andriambololoniaina M, Rakotomalala T, Rakotonirina EJ, Rabemanantsoa C, Cheuk K, Ratsimamanga, SU, Mahillon, El-Jaziri M, Quetin-Leclercq J and AM Corbisier. 2008. Endophytic fungi from leaves of *Centella asiatica*: occurrence and potential interactions within leaves. *Antonie van Leeuwenhoek* 93:27-36. <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9176-0>.

Ruíz-Ramírez R, Hernández-Morales J, Ayala-Escobar V, Soto-Rojas L, Leyva-Mir, SG y Hernández-Ruiz J. 2015. Hongos asociados a cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) deshidratados y almacenados en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 12-30. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092015000100012](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000100012).

- Sambrook J and Russel DW. 2001. Molecular Cloning. A Laboratory manual third edition. *New York. Cold Spring Harbour Laboratory Press.* 46 p.
- Seaman WL. and Shoemaker RA. 1964. *Corynespora cassiicola* on soybean in Ontario. *Plant Disease Reporter* 48: 90.
- SIAP. 2015 Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola. Dirección electrónica: [http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola\\_siap\\_gb/icultivo/index.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp).
- Silva GS., Rego AS and Leite RR. 2014. Doenças da vinagreira no Estado do Maranhão. *Summa phytopathol.* 40 (4): 378-380. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2002>.
- Suryanarayanan TS and Murali TS. 2006. Incidence of *Leptosphaerulina crassiasca* in symptomless leaves of peanut in southern India. *J Basic Microbiol.* 46(4):305-9.
- Tun-Suarez JM, Castillo Peraza ML, Cristobal-Alejo J y Latournerie-Moreno L. 2011. Etiología de la mancha foliar del chile dulce (*Capsicum annuum* L.) y su control in vitro en Yucatán, México. *Fitosanidad* 15: 05-10.
- Wei CT. 1950. Notes on *Corynespora*. *Mycol. Pap.* 34:1-10.
- White TJ, Bruns T, Lee S and Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. p:315-322. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (Eds). PCR Protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego. Doi: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1.
- Zhang Z, Schwartz S, Wagner L and Miller W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 7(1-2):203-214. <http://dx.doi.org/10.1089/10665270050081478>.

### CAPITULO III

#### PROGRESO TEMPORAL DEL MANCHADO DE HOJAS Y CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.), EN GUERRERO, MÉXICO

##### RESUMEN

En localidades de Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, durante los ciclos agrícolas de 2014 y 2015, se estudió el progreso temporal del manchado de hojas y cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) inducido por *Corynespora cassiicola*. Los niveles de incidencia en hojas y cálices, fueron del 100%. La severidad se estimó con escalas logarítmicas diagramáticas. Los valores máximos de severidad fueron de 39% y 67% en hojas y cálices, respectivamente. En hojas incrementos de severidad ocurrieron en los meses de octubre y noviembre, y en cálices a partir de la primera semana de diciembre, con aumentos constantes hasta la cosecha (tercera semana de diciembre). Se observó una asociación entre los periodos de madurez de hojas y cálices con los incrementos en severidad. Las epidemias en hojas y cálices se caracterizaron en base al modelo de Weibull y el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). El modelo de Weibull describió adecuadamente las epidemias ( $r^2=0.93$  a  $0.99$ ). Las diferencias entre localidades se determinaron mediante comparación de tasas de incremento de la enfermedad ( $b^{-1}$ ) y el ABCPE. Los mayores niveles de la enfermedad en base al ABCPE y las tasas de incremento ( $b^{-1}$ ), fueron en San Miguel, y los menores niveles ocurrieron en Xápatláhuac. La severidad se correlacionó positivamente ( $r=0.40$  a  $1$ ) con temperaturas en el rango de  $>10^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}$  y humedades relativas  $>80\%$  y  $\leq 100\%$ . El mayor número de horas con temperaturas  $>20^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}\text{C}$ , generalmente se asociaron con comunidades de mayor severidad.

**Palabras clave:** Epidemiología, *Hibiscus sabdariffa*, *Corynespora cassiicola*.



## 1. INTRODUCCION

La enfermedad del manchado de hojas y cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) inducida por *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei (Ortega-Acosta *et al.*, 2015), es una enfermedad importante para este cultivo en Guerrero, México. La importancia de esta enfermedad se ha incrementado, debido a que puede causar pérdidas totales en la producción de dicho cultivo.

Por otra parte, la comprensión de la epidemiología en un patosistema en su aspecto temporal, es esencial para la implementación de sistemas de manejo (Jeger, 2004). El conocimiento epidemiológico también ha resultado útil en programas de irrigación y aplicación de fungicidas en betabel (*Beta vulgaris* L.) para el manejo de la mancha inducida por *Cercospora beticola* Sacc. (Skaracis *et al.*, 1996). De acuerdo con Ojimbo y Scherm (2005), la descripción cuantitativa del progreso temporal de la enfermedad es un paso importante para el esclarecimiento de la epidemiología en patógenos de plantas. Al respecto, Madden *et al.* (2007), mencionan que el progreso de la enfermedad, descrita como la proporción de la enfermedad a través del tiempo, es la mejor manera de representar una epidemia.

Cada epidemia en su aspecto temporal tendrá una estructura particular; la cual, estará determinada por las características del patosistema y las condiciones ambientales, además de la resistencia intrínseca del hospedante y la relacionada con la edad de ciertos tejidos específicos (como hojas y frutos), factores que determinan el desarrollo epidémico (Maanen y Xu, 2003; Mersha y Hau, 2011).

Estudios epidemiológicos realizados por Mehrotra (1989) y Sandeep *et al.* (2016), han detectado etapas fenológicas críticas de infecciones por *C. cassiicola*. Por otra parte, en base a lo reportado por Onesirosan (1974), *Corynespora cassiicola*, presenta una temperatura óptima de

desarrollo de 28 °C. Además, este patógeno es favorecido por altas humedades relativas (100%) (Fernando *et al.*, 2012).

La temperatura y humedad relativa, son utilizadas en estudios de epidemias en enfermedades foliares (Godoy *et al.*, 2003). Diversos trabajos han analizado la influencia del clima en el comportamiento de las curvas del progreso temporal (Chowdhury y Hossain, 2011).

La edad de la planta y presión de inóculo, afectan el progreso de la enfermedad en ciertos patosistemas (Ojiambo y Scherm, 2005; Chelal y Hau, 2015). Al respecto, Conover (1978) y Schlub *et al.* (2009) mencionan que órganos viejos son susceptibles a infecciones por *C. cassiicola*.

En Guerrero, no se cuentan con estudios del comportamiento temporal y factores asociados a la enfermedad manchado de la jamaica inducida por *C. cassiicola*.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue documentar el progreso temporal de la enfermedad y factores asociados al manchado de hojas y cálices en jamaica, en diferentes condiciones ambientales.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Sitios de estudio y variables evaluadas.**

En los ciclos 2014 y 2015, se seleccionaron cuatro localidades productoras de Ayutla y Tecoaapa, Guerrero (Cuadro 1). En cada una de ellas se seleccionó una parcela comercial, cultivada bajo el sistema maíz-jamaica.

**Cuadro 1.** Localidades y fechas de siembra en parcelas de jamaica, para evaluar el progreso temporal del manchado de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en Guerrero.

Municipio	Localidad	Año 2014	Año 2015	Altitud msnm	Coordenadas
Tecoanapa	Tecoanapa	19 de junio*	17 de junio	443	N 16°59.855' O 99°14.937'
Tecoanapa	Xalpatháhuac	20 de junio	19 de junio	689	N 17°00.343' O 99°19.748'
Ayutla	Cotzálzin	18 de junio	20 de junio	302	N 16°54'9.48. O 99°05.838'.
Ayutla	San Miguel	17 de junio	18 de junio	386	N 16°59.257' O 99°05.934'

\*Fechas de siembras.

En cada localidad se seleccionó una superficie cuadrangular, y se marcó con estacas de madera de 50 cm, y se registró con un Geoposicionador Global (Garmin e-Trex®). La superficie fue de 15 surcos separados a 1 m, en cada surco se evaluaron 8 matas (0.8 cm entre matas), en cada mata se seleccionó una planta y se evaluó durante todo el ciclo del cultivo. La planta se dividió en tres estratos de acuerdo a Villanueva-Couoh *et al.* (2005), que fueron bajo, medio y alto; en cada estrato se seleccionaron tres hojas o tres cálices, según la etapa fenológica, y se registró su incidencia y severidad.

La incidencia (%) fue estimada con la siguiente fórmula; incidencia (%) = número de hojas o cálices enfermos/total observado\*100. La severidad se estimó con dos escalas logarítmicas diagramáticas propuestas por Ortega-Acosta *et al.* (2016). Las escalas en hojas comprenden las siguientes clases: 0=0, 1= (>0- 2 - 4), 2= (>4-7-12), 3= (>12-19-29), 4= (>29-42-57) y 5= (>57-70-≤100); y para cálices: 0=0, 1= (>0-3-5), 2= (>5-10-18), 3= (>18-30-46), 4= (>46-63-77) y 5= (>77-87-≤100). Con esto, se obtuvo la incidencia y severidad promedio para cada planta.

Las evaluaciones en hojas iniciaron en agosto y finalizaron en noviembre; en cálices fueron en noviembre y diciembre. Los intervalos de evaluación en hojas fueron cada 10 días; y en cálices

semanalmente. En los sitios evaluados no se aplicaron fungicidas para permitir el desarrollo natural de las epidemias.

## **2.2. Análisis del progreso temporal de la enfermedad.**

Con los datos de incidencia y severidad, se estimó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), mediante el método de integración trapezoidal (Cambell y Madden, 1990), y se realizó un análisis de varianza. Cuando se detectaron diferencias significativas entre localidades, estas se separaron con la prueba de Tukey,  $p=0.05$ . Las epidemias registradas en ambos ciclos de cultivo, fueron descritas en base al modelo de Weibull (Pennypacker *et al.*, 1980), en su forma simplificada a dos parámetros ( $b$  y  $c$ ) (Thai *et al.*, 1984), debido a su flexibilidad para describir diferentes tipos de epidemias (Rebollar-Alviter *et al.*, 2001). Las tasas de infección aparente se calcularon con el inverso del parámetro  $b$  ( $b^{-1}$ ), las diferencias entre sitios se determinaron con la separación de medias con el ajuste Bonferroni. En todos los casos se utilizó el logaritmo (log) de la incidencia o severidad. Los análisis estadísticos se realizaron en SAS ver. 9.4.

## **2.3. Variables ambientales asociadas a la enfermedad.**

Con un Datalogger (HobooWare<sup>®</sup>) se estimó la temperatura y humedad relativa para cada sitio seleccionado. Las temperaturas entre 20°C a 30°C (Onesirosan *et al.*, 1974; Jones y Jones, 1984; Fernando *et al.*, 2012, Ahmed *et al.*, 2013 y humedades relativas de 80% a 100% (Nyvall, 1989; Fernando *et al.*, 2012), favorecen el desarrollo de *Corynespora cassiicola*. Por lo anterior, se calcularon los números de horas de los siguientes intervalos: temperaturas;  $>10^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ,  $>20^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}\text{C}$ ,  $>30^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 40^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa;  $>70\%$  y  $\leq 80\%$ ,  $>80\%$  y  $\leq 90\%$  y  $>90\%$  y  $\leq 100\%$ , el cálculo fue realizado para los periodos de evaluaciones en hojas y cálices. Con los datos obtenidos, se realizó un análisis de correlación aplicando el coeficiente Spearman con la severidad registrada. Los análisis estadísticos se realizaron en SAS ver. 9.4.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

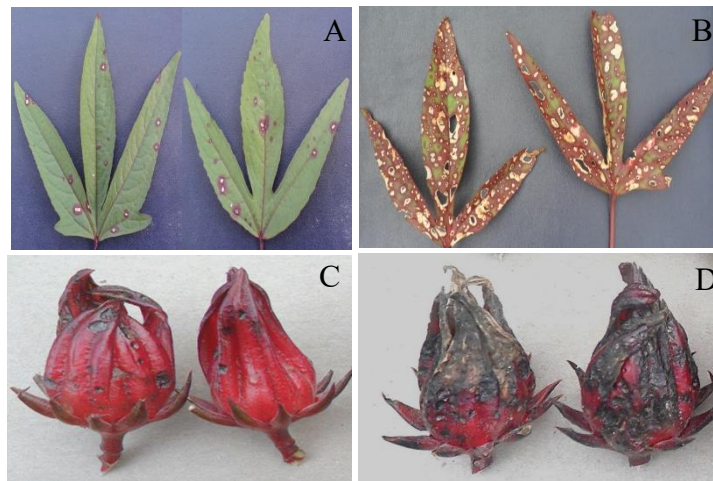
#### 3.1. Análisis del progreso temporal de la enfermedad.

El manchado de hojas y cálices inducido por *Corynespora cassiicola*, se presentó con alta incidencia y severidad en ambos ciclos evaluados. Sin embargo, en general las epidemias fueron mayores en el segundo ciclo de evaluación (2015), y estos aumentos fueron notables en cálices. Posiblemente debido a que ocurrieron lluvias frecuentes en noviembre y diciembre, situación que coincidió con el periodo de mayor susceptibilidad para cálices. En cambio, en 2014, en estos meses (noviembre y diciembre) las lluvias fueron menos frecuentes.

Por otra parte, los niveles de incidencia en hojas y cálices fueron del 100% en 2014 y 2015. El comportamiento de la incidencia en hojas, como se puede observar en la Figura 2A, aproximadamente a los 40 días después de las primeras evaluaciones (ddpe), los niveles fueron generalmente del 100% y, hacia el final del estudio todas las localidades llegaron al 100%. En hojas, la severidad se incrementó generalmente a los 60 ddpe (Figura 2A) (primera semana de septiembre), y la severidad máxima promedio, en 2014 y 2015, fue mayor en San Miguel con 39.23%, seguida de Cotzálzin con 35.49%, Tecuantepec con 28.73%, y la menor severidad se registró en Xalpatláhuac con 17.36%. Frecuentemente, la severidad de hojas, en las últimas evaluaciones se observó un efecto de dilución de la enfermedad, principalmente en sitios con alta severidad (San Miguel, Tecuantepec y Cotzálzin), debido a la pérdida acelerada de hojas (defoliación prematura). Diversos estudios han demostrado un comportamiento similar inducido por *Corynespora cassiicola* en otros cultivos, tales como los realizados por Conover (1978) en papaya (*Caryca papaya* L.), Seo *et al.* (2013) en *Hibiscus syriacus* L., y Galbieri *et al.* (2014) en *Gossypium hirsutum* L. Sin embargo, este comportamiento no se había registrado en el patosistema *Corynespora cassiicola*-*Hibiscus sabdariffa*.

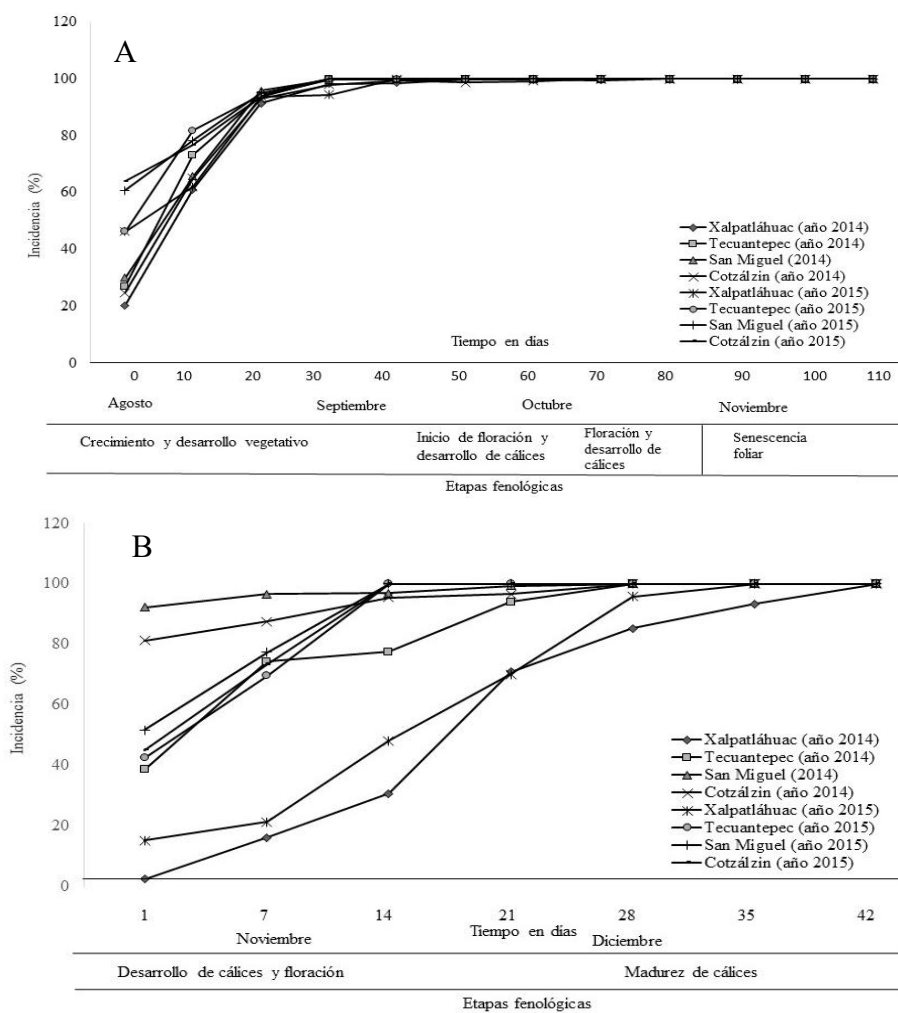
Chelal y Hau (2015), al estudiar el comportamiento de *Oidium neolycopersici* L. Kiss en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) observaron un efecto de dilución de la enfermedad y lo atribuyeron a infecciones severas en las láminas foliares inducidas por el patógeno.

En cálices, a los 21 ddpe, en las localidades de San Miguel, Cotzalzin y Tecuantepec, los valores de incidencia fueron generalmente del 100%, y la localidad de Xalpatláhuac presentó los menores aumentos. Sin embargo, hacia el final del estudio, todos los sitios evaluados presentaron incidencias del 100% (Figura 2B). En cálices, la mayor severidad absoluta promedio en 2014 y 2015, se registró una vez más en San Miguel con 67.18%, seguida por Cotzálzin con 50.73%, Tecuantepec con 45.03% y, en Xalpatláhuac se registró la menor severidad (20.69%). El comportamiento temporal indica que a los 28 ddpe (primera semana de diciembre), se observó un acelerado incremento de la severidad, y alcanzó los máximos niveles en la tercera semana de diciembre en ambos ciclos de evaluaciones (Figura 1; Figura 2B).



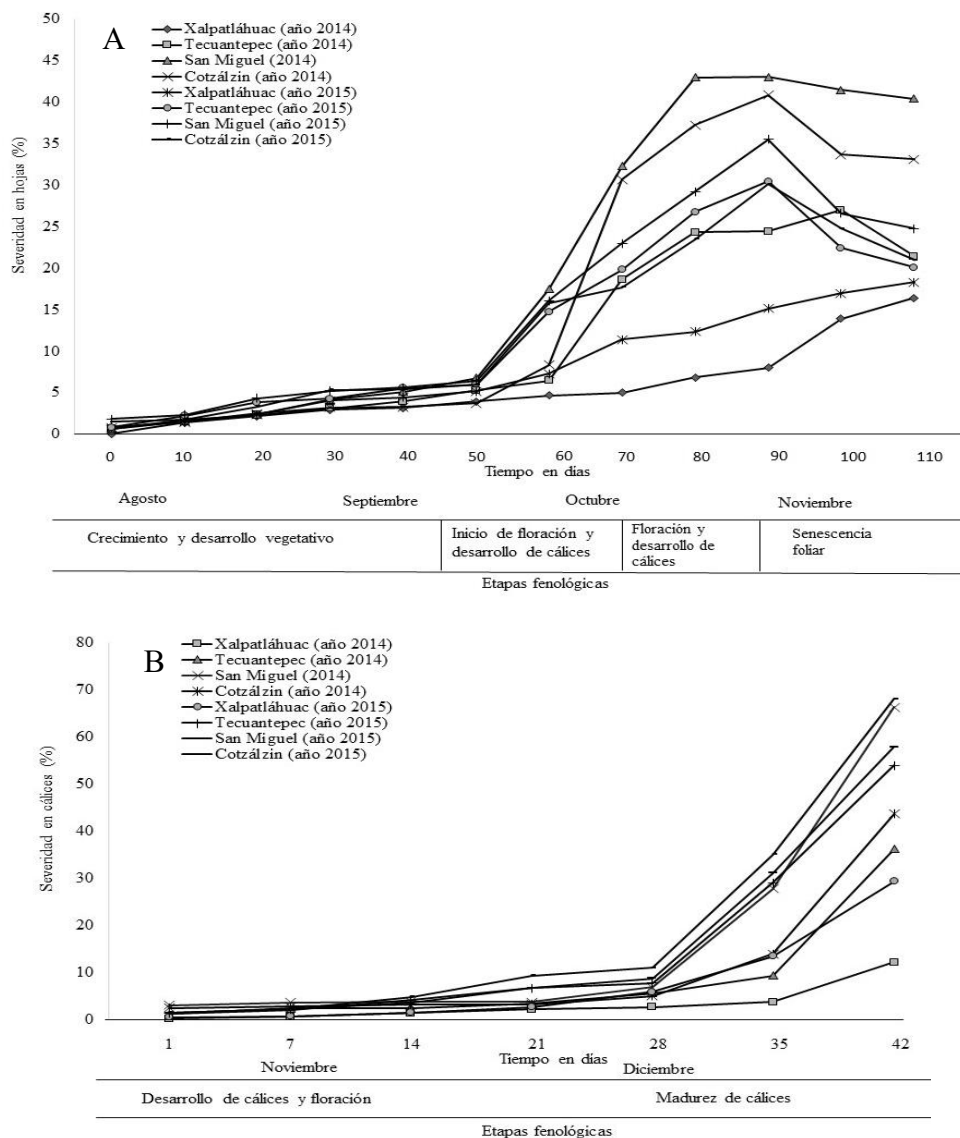
**Figura 1.** Niveles de la severidad del manchado en hojas y cálices de jamaica. A: 2%; etapas iniciales en hojas (agosto). B: 70%, etapas avanzadas en hojas (noviembre). C: 3%; etapas iniciales en cálices (noviembre). D: 63%; etapas avanzadas en cálices (diciembre). Ciclo 2014.

Estos resultados sugieren que el hongo *C. cassiicola* prefiere infectar órganos viejos (hojas y cálices) (Figuras 1, 2 y 3), resultados similares han sido reportados en papaya por Conover (1978), y por Schlub *et al.* (2009) en jitomate, estos autores indicaron que *C. cassiicola* se asocia más frecuentemente a hojas viejas.



**Figura 2.** Graficas del progreso no acumulado de la enfermedad manchado de hojas y cálices durante 2014 y 2015 en Guerrero. A; progreso no acumulado de la incidencia en hojas. B; progreso no acumulado de la incidencia en cálices.

Por otra parte, Sandeep *et al.* (2016), estudiaron el comportamiento de *C. cassicola* en el cultivo de caupí (*Vigna mungo* L.) y determinaron que las infecciones iniciaron en septiembre, y desarrollaron rápidamente del 17 de noviembre al 29 de diciembre, resultados similares a los determinados en el presente estudio.



**Figura 3.** Graficas del progreso no acumulado de la enfermedad manchado de hojas y cálices durante 2014 y 2015 en Guerrero. A; progreso no acumulado de la severidad en hojas. B; progreso no acumulado de la severidad en cálices.



Asimismo, en cultivos perennes, se ha observado un comportamiento similar, por ejemplo; en ceiba (*Ceiba pentandra*) (L.) Gaertn., reportaron que el manchado de hojas inducida por *C. cassicola* pasó desapercibida en plantas jóvenes en condiciones de vivero, y se incrementó en los meses posteriores, causó 40% de severidad en hojas (Mehrotra, 1989).

Como se puede observar en el cuadro 2 y figura 4, para ambos ciclos de evaluaciones (2014 y 2015), el modelo de Weibull, describió adecuadamente el progreso de la severidad acumulada de la enfermedad, ya que los coeficientes de determinación ( $r^2$ ) variaron de 0.96 a 0.99 y 0.93 a 0.99 en el progreso acumulado de la incidencia y severidad, respectivamente (Cuadro 2).

Por otra parte, los análisis indicaron diferencias estadísticas significativas para el parámetro  $b^{-1}$  y ABCPE. Para  $b^{-1}$  en base al modelo de Weibull, indicó que las mayores tasas de crecimiento en ambos ciclos de evaluaciones ocurrieron en San Miguel, seguidas por Cotzálzin y Tecuantepec, la localidad de Xalpatláhuac presentó las menores tasas de crecimiento. Para el parámetro ABCPE, se determinó un comportamiento similar (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) (Cuadro 2), y consistentemente en la localidad de San Miguel estadísticamente ocurrió la mayor ABCPE, en contraste con Xalpatláhuac en la que se determinó la menor ABCPE. Estos resultados sugieren que en San Miguel se presentaron condiciones favorables para la expresión de altos niveles de severidad, durante ambos años de evaluaciones, contrariamente la localidad de Xalpatláhuac, presentó las condiciones menos propicias para el desarrollo de la enfermedad.

**Cuadro 2.** Parámetros epidemiológicos correspondientes a los ciclos 2014 y 2015 de la incidencia y severidad del progreso acumulado de la enfermedad manchado de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en Guerrero.

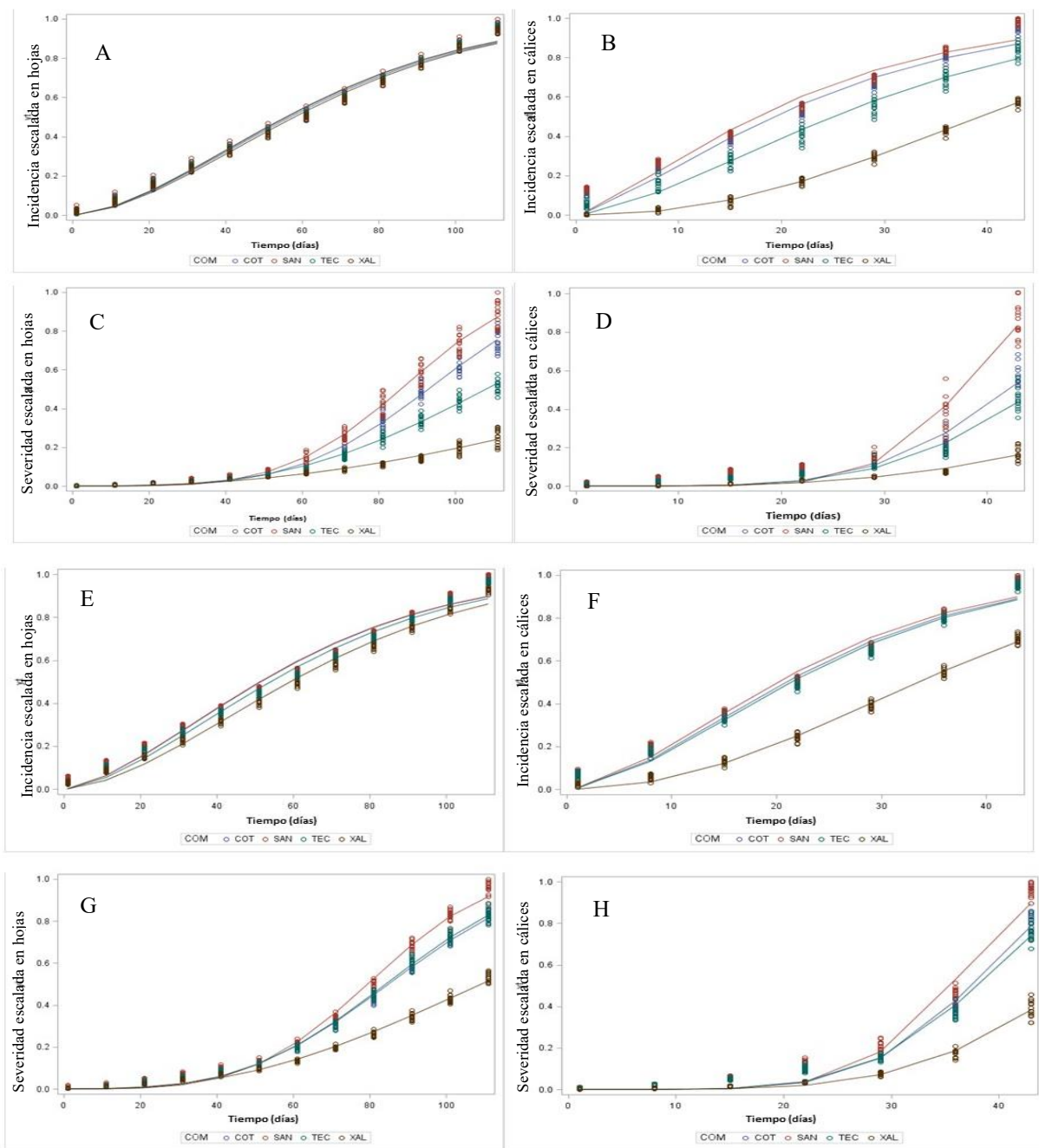
Localidades	Epidemias	Variables	2014			2015		
			r <sup>2</sup>	b <sup>-1*</sup>	ABCPE (log) <sup>‡</sup>	r <sup>2</sup>	b <sup>-1*</sup>	ABCPE (log)
Xalphatláhuac	H <sup>¥</sup>	S <sup>€</sup>	0.95	0.0052 *d	147.49 d	0.99	0.0079 c	195.42 c
Tecoantepec	H	S	0.99	0.0082 c	211.52 c	0.99	0.0106 b	239.59 b
San Miguel	H	S	0.99	0.0107 a	252.90 a	0.99	0.0114 a	255.35 a
Cotzálzin	H	S	0.99	0.0098 b	226.65 b	0.99	0.0105 b	240.16 b
Xalphatláhuac	C <sup>©</sup>	S	0.93	0.0139 c	20.47 d	0.98	0.0199 d	43.39 c
Tecoantepec	C	S	0.95	0.0206 b	59.27 c	0.99	0.0246 c	79.80 b
San Miguel	C	S	0.95	0.0254 a	81.15 a	0.98	0.0265 a	89.07 a
Cotzálzin	C	S	0.95	0.0220 b	67.56 b	0.99	0.0251 b	81.09 b
Xalphatláhuac	H	I <sup>ϕ</sup>	0.99	0.0139 b	491.50 b	0.99	0.0135 c	492.60 c
Tecoantepec	H	I	0.99	0.0143 b	494.99 a	0.99	0.0147 b	498.75 b
San Miguel	H	I	0.98	0.0144 a	495.85 a	0.98	0.0153 a	501.41 a
Cotzálzin	H	I	0.99	0.0141 b	493.49 ba	0.98	0.0153 ab	500.99 a
Xalphatláhuac	C	I	0.99	0.0216 d	151.15 c	0.99	0.0250 c	167.77 c
Tecoantepec	C	I	0.97	0.0314 c	185.48 b	0.98	0.0373 b	187.83 b
San Miguel	C	I	0.96	0.0428 a	192.61 a	0.98	0.0394 a	189.30 a
Cotzálzin	C	I	0.97	0.0394 b	191.15 a	0.98	0.0381 ab	188.44 ab

\*Asignación de literales basadas en el ajuste Bonferroni.

‡ Tukey p=0.05.

¥H=epidemias en hojas; ©C= epidemias en cálices

€S= severidad; ϕI= incidencia.



**Figura 4.** Modelo de Weibull de las curvas del progreso acumulado de la enfermedad del manchado de jamaica durante 2014 y 2015 en Guerrero. COM=comunidades. COT=Cotzálzin. SAN=San Miguel. TEC=Tecuntepec y XAL=Xalpatláhuac. A; progreso acumulado de la incidencia en hojas en 2014. B; progreso acumulado de la incidencia en cálices en 2014. C; progreso acumulado de la severidad en hojas en 2014. D; progreso acumulado de la severidad en cálices en 2014. E; progreso acumulado de la incidencia en hojas en 2015. F; progreso acumulado de la incidencia en cálices en 2015. G; progreso acumulado de la severidad en hojas en 2015. H; progreso acumulado de la severidad en cálices en 2015.

### 3.2. Variables ambientales asociadas a la enfermedad.

Las diferencias determinadas entre sitios evaluados con la enfermedad del manchado de hojas y cálices, sugieren que las temperaturas y humedades relativas influyeron en el comportamiento para la expresión de la enfermedad; la localidad de Xalpatláhuac presentó la menor temperatura promedio y humedad relativa en ambos ciclos de evaluaciones, contrastando con la localidad de Cotzálzin y San Miguel que registraron las mayores temperaturas promedio. Además, la localidad de San Miguel, mantuvo humedades relativas altas en ambos ciclos de evaluaciones. Contrariamente, Cotzálzin registró bajas humedades relativas en el segundo año de evaluación, pero presentó altas temperaturas promedio (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Promedio de temperaturas durante los periodos de evaluaciones de incidencia y severidad del manchado de hojas y cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en 2014 y 2015, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.

Año	Localidades	Tempro*	Hrprom <sup>ϕ</sup>
2014	Xalpatláhuac	24.92	83.55
2014	Tecuntepec	25.51	85.26
2014	San Miguel	26.37	84.75
2014	Cotzálzin	25.54	82.11
2015	Xalpatláhuac	25.41	78.00
2015	Tecuntepec	26.50	80.34
2015	San Miguel	26.78	84.87
2015	Cotzálzin	27.71	77.00

\*Tempro =temperatura promedio; <sup>ϕ</sup>Hrpro =humedad relativa promedio.

Cabe mencionar que para el ciclo 2015 se registraron mayores temperaturas y menores humedades relativas promedio, comparadas con 2014, excepto para San Miguel, sitio en el cual presentó mayor temperatura y humedad relativa promedio. Las temperaturas y humedades relativas en ambos ciclos de evaluaciones en general fueron favorables para la presencia de *Corynespora*

*cassiicola* (Cuadro 3). Al respecto, Onesirosan *et al.* (1974) estudiaron el comportamiento de aislamientos de *C. cassiicola*, provenientes de diversos hospedantes y regiones de África y América del Norte. Ellos determinaron que la temperatura óptima de *C. cassiicola* fue de 28°C, con temperatura mínima de 12°C. Por su parte, Ahmed *et al.* (2013) reportaron que las temperaturas de 25°C a 30°C fueron óptimas para el desarrollo de *C. cassiicola* aislados de okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). Asimismo, Teramoto *et al.* (2013) mencionan que humedades relativas altas favorecen la germinación de conidios de *C. cassiicola*. En el presente estudio en sitios con altas temperaturas y humedades relativas, generalmente se registraron los mayores niveles de incidencia y severidad, tal fue el caso de San Miguel y Tecoaatepec. La comunidad de Cotzalzin estuvo más asociado con altas temperaturas.

Diversos autores han documentado que las altas temperaturas y humedades relativas, son favorables para el desarrollo de *Corynespora cassiicola* (Onesirosan *et al.*, 1974; Fernando *et al.*, 2012; Teramoto *et al.*, 2013; Fortunato *et al.*, 2015). Como se puede observar en el Cuadro 4, consistentemente el mayor número de horas  $>20^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}\text{C}$ , se registraron en la localidad de San Miguel, con un total de 1,977 horas para el ciclo 2014, y 2,034 horas en 2015. En contraste con la localidad de Xalphatláhuac que registró 1,681 y 1,786, para 2014 y 2015 respectivamente. Al respecto, Jones y Jones (1984), determinaron que el rango óptimo de temperatura para el desarrollo del manchado en jitomate (*Solanum lycopersium* L.) inducida por *C. cassiicola* en condiciones de campo fue de 20°C a 28°C. Fernando *et al.* (2012) indicaron que humedades relativas altas (100%) favorecen a *C. cassiicola*, lo que podría explicar las altas tasas de crecimiento de la enfermedad en San Miguel, localidad en la cual se presentaron los mayores números horas con temperaturas  $>20^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}\text{C}$ , y humedades relativas  $>90\%$  y  $\leq 100\%$ , en ambos ciclos de evaluaciones (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Número de horas en diferentes rangos de temperaturas y humedades relativas, en parcelas comerciales de jamaica (*Hibiscus sabadariffa* L.), evaluadas con la enfermedad del manchado, durante los ciclos 2014 y 2015, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero.

Localidad	Temperatura			Humedad relativa		
	>10°C a ≤20°C	>20°C a ≤30°C	>30°C a ≤40°C	>70% a ≤80%	>80% a ≤90%	>90% a ≤100%
Año 2014						
Xalpatláhuac	546	1681	551	262	242	1704
Tecuntepec	455	1702	702	188	244	1814
San Miguel	224	1977	629	197	324	1836
Cotzálzin	265	1894	651	326	456	1381
Año 2015						
Xalpatláhuac	127	1786	478	352	366	655
Tecuntepec	120	1813	607	400	439	1111
San Miguel	23	2034	627	233	248	1831
Cotzálzin	40	1970	660	162	1384	546

Por otra parte, Xalpatláhuac superó a Cotzálzin en cuanto al número de horas favorables en humedades relativas >90% y ≤100% en ambos ciclos de evaluaciones, sin embargo, Xalpatláhuac consistentemente presentó las menores temperaturas favorables (>20°C y ≤30°C); en este sentido Godoy *et al.* (2003) estudiaron en diferentes ambientes el comportamiento temporal de la roya sureña en maíz (*Zea mays* L.), inducida por *Puccinia polysora* Underw., y registraron la temperatura y humedad relativa. El factor que más explicó las diferencias de severidad fue la temperatura. Resultados similares fueron determinados en este estudio: la temperatura fue la variable que más explicó las diferencias de incidencia y severidad entre localidades.

Por otra parte, los análisis estadísticos, indicaron correlaciones positivas de moderadas a muy altas ( $r=0.40$  a 1) entre la severidad en hojas, principalmente con los rangos de temperaturas

$>20^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}\text{C}$ , durante los dos ciclos de evaluaciones. Lo anterior indica que estas fueron las condiciones que influyeron para el desarrollo de las epidemias en hojas (Cuadro 4).

En cálices, generalmente la severidad se correlacionó con temperaturas del rango  $>10^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 20^{\circ}\text{C}$  (correlaciones positivas de 0.50 a 0.90), excepto para San Miguel en el año 2015, que se correlacionó positivamente ( $r=0.60$ ) con temperaturas en el rango de  $>30^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 40^{\circ}\text{C}$  y baja correlación ( $r^2=0.35$ ) con el rango  $>10^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ . La humedad relativa, durante los dos ciclos de evaluaciones, se correlacionaron positivamente con la severidad en hojas, generalmente en los rangos que fueron  $> 70\%$  y  $\leq 80\%$ , y en cálices en rangos que van de  $> 80\%$  y  $\leq 90\%$  y rangos  $> 90\%$  y  $\leq 100\%$  (Cuadro 5). En soya (*Glycine max* L.), Fortunato *et al.* (2015), mencionan que temperaturas elevadas ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), más la asociación de alta humedad relativa en la estación de crecimiento del cultivo, favorece la aparición de epidemias severas por el hongo *C. cassicola*. En el presente estudio, la localidad de San Miguel, presentó estas dos características, y fue la localidad más afectada con la enfermedad del manchado de la jamaica.

**Cuadro 5.** Correlaciones entre número de horas y humedades relativas con la severidad del manchado de hojas y cálices en jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), inducida por *Corynespora cassiicola* en diferentes condiciones ambientales de Ayutla y Tecoaanaopa, Guerrero, durante 2014 y 2015.

Localidades	Variables	Tem1 <sup>¥</sup>	Tem2	Tem3	HR1 <sup>ϕ</sup>	HR2	HR3
Hojas en 2014							
Xalpatláhuac	s*	-0.60	<u>0.60</u>	-0.60	<u>0.80</u>	0.40	0.32
Tecuntepec	S	-0.20	<u>0.40</u>	-0.63	<u>0.40</u>	-0.20	-0.20
San Miguel	S	.	<u>0.40</u>	-0.40	<u>0.74</u>	0.60	-0.60
Cotzálzin	S	.	<u>0.80</u>	-0.80	<u>0.80</u>	-0.40	0.00
Cálices en 2014							
Xalpatláhuac	S	<u>0.80</u>	-0.90	-0.41	-0.10	<u>0.60</u>	-0.67
Tecuntepec	S	<u>0.72</u>	-0.70	0.30	-0.72	<u>0.72</u>	-0.60
San Miguel	S	<u>0.70</u>	-0.70	-0.30	0.10	<u>0.70</u>	-0.50
Cotzálzin	S	<u>0.50</u>	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	<u>0.50</u>
Hojas en 2015							
Xalpatláhuac	S	-0.40	<u>0.80</u>	0.00	<u>0.40</u>	<u>0.80</u>	-0.40
Tecuntepec	S	.	<u>0.80</u>	-0.80	<u>0.63</u>	-0.80	-0.80
San Miguel	S		<u>1.00</u>	-0.20	<u>0.60</u>	0.20	<u>1.00</u>
Cotzálzin	S	-0.77	<u>0.40</u>	-1.00	-0.77	<u>0.80</u>	-0.40
Cálices 2015							
Xalpatláhuac	S	<u>0.90</u>	-0.90	-0.90	-0.21	<u>0.40</u>	-0.71
Tecuntepec	S	<u>0.87</u>	-0.80	-0.70	-0.80	-0.80	<u>0.80</u>
San Miguel	S	<u>0.35</u>	0.10	0.60	0.46	<u>0.60</u>	-0.90
Cotzálzin	S	<u>0.79</u>	-0.70	-0.10	0.60	-1.00	<u>1.00</u>

\*s=severidad.

<sup>¥</sup>Tem1= temperaturas >10°C y ≤20°C. Tem2 =temperaturas >20°C y ≤30°C. Tem3 =temperaturas >30 Y ≤40°C.

<sup>ϕ</sup>HR1= humedades relativas >70% Y ≤80%. HR2 =humedades relativas >80% y ≤90%. HR3 =humedades relativas >90% y ≤100%.



#### 4. CONCLUSIONES

El progreso temporal de la enfermedad del manchado inducido por *Corynespora cassiicola* en hojas los mayores periodos de crecimiento ocurrieron en octubre, y en cálices fueron en la primera semana de diciembre. La severidad de la enfermedad se intensificó en los estados avanzados de madurez en hojas y cálices. El modelo de Weibull describió adecuadamente las epidemias en hojas y cálices. Las mayores incidencias y severidades en base al ABCPE y tasas de crecimiento ( $b^{-1}$ ) se registraron en San Miguel, Cotzalzin y Tecoantepec, en Xalpatláhuac se detectaron los menores niveles. Las temperaturas  $>20^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 30^{\circ}\text{C}$  se asoció con mayores incidencias y severidades.

#### 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cambell and Madden LV. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. New York. John Wiley & Sons.
- Chelal J and Hau B. 2015. Temporal dynamics of powdery mildew (*Oidium neolycopersici*) and its effects on the host growth dynamics of tomato. *J. Phytopathol.* 163 711-722. <https://doi.org/10.1111/jph.12368>.
- FAO. 2004. Food and Agriculture Organization of the United Nations. HIBISCUS: Post-Production Management for Improved Market. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/inpho/docs/Post\\_Harvest\\_Compndium\\_-\\_Hibiscus.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compndium_-_Hibiscus.pdf).
- Fortunato AA, Debona D, Bemardeli AMA and Rodrigues FA. 2015. Changes in the antioxidant system in soybean leaves infested by *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 105:1050-1058. <https://doi.org/10.1094/phyto-10-14-0283-r>.
- Galbieri R, Araújo D, Kobayasti L, Giroto L, Matos J, Marangoni M, Almeida W and Mehta Y. 2014. *Corynespora* leaf blight of cotton in Brazil and its management. *American Journal of Plant Sciences* 5: 3805-3811. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.526398>.

- Godoy CV, Amorim L, Bergamin-Filho A, Silva HP, Silva WJ and Berger RD. 2003. Temporal progress of southern rust in maize under different environmental conditions. *Fitopatologia Brasileira* 28:273-278. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582003000300008>.
- Jeger MJ. 2004. Analysis of disease progress as a basis for evaluating disease management practices. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:61-82. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140427>.
- Jones JP and Jones JB. 1984. Target spot of tomato: epidemiology and control. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 97:216:218.
- Chowdhury MSM and Hossain I. 2011. Effects of temperature, rainfall and relative humidity on leaf spot of jackfruit seedling and its eco-friendly management. *The Agriculturists* 9: 126-136. <https://doi.org/10.3329/agric.v9i1-2.9487>.
- Maanen A and Xu XM. 2003. Modelling plant disease epidemics. *European Journal of Plant Pathology* 109: 669–682. doi:10.1023/A:1026018005613.
- Madden LV, Hughes G and van den Bosch F. 2007. The study of plant disease epidemics. *Saint Paul MN, APS Press*.
- Mehrotra MD. 1989. *Corynespora cassiicola* leaf spot of ceiba pentandra and its control in the nursery. *Indian Forester* 115(12): 905-909.
- Mersha Z and Hau BJ. 2011. Reciprocal effects of host and disease dynamics in the bean rust pathosystem. *Plant Dis. Prot.* 118: 54-62. <https://doi.org/10.1007/bf03356382>.
- Nyvall RF. 1989. Diseases of soybeans *Glycine max* (L.) Merr. pp 503-559. In: Field Crop Diseases Handbook. Editors: Nyvall, Robert F. (Ed.). *Springer, Van Nostrand Reinhold, New York*.
- Ojiambo PS and Scherm H. 2005. Temporal progress of septoria leaf spot on rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*). *Plant Dis.* 89:1090-1096. <http://dx.doi.org/10.1094/PD-89-1090>.

- Ortega-Acosta SÁ, Velasco-Cruz C, Hernández-Morales J, Ochoa-Martínez DL and Hernández-Ruiz J. 2016. Escalas logarítmicas diagramáticas para evaluar la severidad del manchado de hojas y cálices de jamaica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 270-285. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1606-6.
- Ortega-Acosta SÁ, Hernández-Morales J, Ochoa-Martínez DL and Ayala-Escobar V. 2015. First report of *Corynespora cassiicola* causing leaf and calyx spot on roselle in Mexico. *Plant Dis.* 99(7):1041. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-04-14-0438-pdn>.
- Onesirosan PT, Army DC and Durbin RD. 1974. Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 64:1364-1367. <https://doi.org/10.1094/phyto-64-1364>.
- Pennypacker SP, HD Knoble, CD Antle and Madden LV .1980. A flexible model for studying plant disease progression. *Phytopathology* 70:232-235. <https://doi.org/10.1094/phyto-70-232>.
- Rebollar-Alviter A, Mora-Aguilera G y Leyva-Mir SG. 2003. Progreso temporal y control de la roya [*Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arth.] de la Frambuesa Roja (*Rubus idaeus* L.) en Valle de Bravo, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:278-284. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221306>.
- Sandeep NG, M Adinarayana, V Manoj K. and T Madhumathi. 2016. Effect of weather parameters on corynespora leaf spot disease severity of blackgram. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science.* 9 (2): 08-14. 10.9790/2380-09220814.
- Schlub RL, LJ Smith, LE Dantoff and Pernezny K. 2009. An overview of target spot of tomato caused by *Corynespora cassiicola*. *Acta Hort* 808:25-28. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2009.808.1>

- Seo ST, Park JH, Cho SE and HD Shin. 2013. First report of leaf spot caused by *Corynespora cassiicola* on rose of sharon in Korea. *Plant Dis.* 97(6): 847. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-11-12-1099-PDN>.
- Skaracis GN, Ioannidis PM, Ioannidis PI. 1996. Integrated management systems against sugarbeet *Cercospora* leaf spot disease. *Congr. Inst. Int. Rech. Bett.*, 59e, Bruxelles 45–54.
- Fernando THPS, CK Jayasinghe, RLC Wijesundera and Siriwardane D. 2012. Some factors affecting in vitro production, germination and viability of conidia of *Corynespora cassiicola* from *Hevea brasiliensis*. *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka* 40 (3):241-249. <http://dx.doi.org/10.4038/jnsfsr.v40i3.4698>.
- Thai WM, Campbell CL, Madden LV. 1984. Sensitivity of Weibull model parameters estimates to variation in simulated disease progression data. *Phytopathology* 74: 1425-1430. <https://doi.org/10.1094/phyto-74-1425>.
- Villanueva-Couoh E, Sánchez-Briceño, MÁ, Cristóbal-Alejo J, Ruiz-Sánchez E y Tún-Suárez, JM. 2005. Diagnóstico y alternativas de manejo químico del tizón foliar (*Alternaria chrysanthemi* Simmons y Crosier) del Crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) Kitamura en Yucatán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23:49-56. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/612/61223107.pdf>.
- Conover RA. 1978. *Corynespora* leaf spot, a disease of Florida papayas. *Proc. Fla St. hort. Soc.* 91:184-185.
- Ahmed FA, Alam N and Khair A. 2013. Incidence and biology of *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei. Disease of okra in Bangladesh. *Bangladesh J. Bot.* 42(2): 265-272. <http://dx.doi.org/10.3329/bjb.v42i2.18028>.

## CAPITULO IV

### CONTROL QUÍMICO DEL MANCHADO DE HOJAS Y CÁLCICES DE JAMAICA

#### *(Hibiscus sabdariffa L.) EN GUERRERO, MÉXICO*

#### RESUMEN

La enfermedad denominada manchado de hojas y cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) inducida por *Corynespora cassiicola*, actualmente es considerada la principal limitante fitosanitaria para la producción de este cultivo en Guerrero, y puede causar pérdidas significativas a la producción. En los ciclos 2014 y 2015, se evaluó la efectividad biológica de diversas sustancias químicas (convencionales y alternativas) para el control de esta enfermedad. Los sitios de evaluaciones quedaron establecidos bajo condiciones de campo y presión natural de inóculo en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero. El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. Las sustancias (tratamientos), fueron aplicados a intervalos de 7 y 14 días. Para cada tratamiento, se registró la severidad en hojas y cálices con apoyo de una escala logarítmica diagramática, y se estimó el peso fresco y seco de cada unidad experimental. Con los datos obtenidos, se realizó un análisis de varianza y pruebas de separación de medias (Tukey-Kramer,  $\alpha=0.05$ ). Los resultados indicaron que los productos más efectivos para reducir la severidad de la enfermedad fueron Mancozeb, Clorotalonil y Benomilo + Oxidloruro de cobre, además las unidades experimentales con estos tratamientos mostraron el mejor peso fresco y seco de cálices. Los productos alternativos redujeron moderadamente la enfermedad.

**Palabras clave:** Control químico, fungicidas, *Hibiscus sabdariffa*, *Corynespora cassiicola*.

## 1. INTRODUCCIÓN

En México el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es importante, ya que anualmente se destinan más de 19,000 ha para su producción. En Guerrero se cultiva más del 70% de la superficie nacional con esta especie (SIAP, 2015). En este estado se ha registrado una enfermedad denominada manchado de la jamaica inducida por *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei (Ortega-Acosta *et al.*, 2015), la cual ha causado pérdidas significativas a la producción de cálices. Los cálices infectados presentan problemas para su comercialización debido a su mala apariencia, y en casos extremos el rechazado total del producto. Los fungicidas convencionales representan una importante herramienta para el manejo de enfermedades (Pernezny, 2002; Pernezy *et al.*, 2008; Tun-Suarez *et al.*, 2011). Diversos fungicidas sintéticos han sido efectivos para el control de *Corynespora cassiicola* en otros cultivos (Pernezy *et al.*, 2008; Tun-Suarez *et al.*, 2011), y en jamaica en el control de *Coniella musaiensis* var. *hibisci* B. Sutton (Nejo *et al.*, 2007; Apeyuan *et al.*, 2016). Por otra parte, las estrategias de manejo, basadas en productos biorracionales, tales como la supresión de patógenos a través de microorganismos vivos, o compuestos naturales derivados de organismos vivos (Marrone, 2009), se han evaluado en los últimos años para el manejo de diversas enfermedades (Pernezny, 2002; Cromwell *et al.*, 2011; Marku *et al.*, 2014; Mantil *et al.*, 2015) ya que son consideradas de bajo riesgo para la salud humana y el medio ambiente (Cromwell *et al.*, 2011; Marku *et al.*, 2014).

A nivel nacional, no se cuentan con opciones de manejo que permitan reducir el daño inducido por *Corynespora cassiicola* en el cultivo de jamaica. Por lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron evaluar en condiciones de campo diversas sustancias químicas convencionales y alternativas para el control del manchado de hojas y cálices de jamaica.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Área de estudio y tratamientos.

En los ciclos de cultivo primavera-verano de 2014 y 2015 se establecieron dos parcelas experimentales de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivar “criollo”, en Ayutla y Tecoaapa, Guerrero. Los experimentos se establecieron condiciones de campo. Los ensayos se alojaron en la misma parcela durante los dos ciclos consecutivos, excepto para Ayutla, que tuvo que realizarse en un lote diferente para 2015, ubicado aproximadamente a 100 m de distancia del lote utilizado en 2014. En total fueron nueve tratamientos, que se indican en el cuadro 1:

**Cuadro 1.** Tratamientos químicos, utilizados para el control del manchado de hojas y cálices en jamaica, inducido por *Corynespora cassicola*, en Guerrero.

Tratamientos	Dosis	Categoría del producto
<b>Convencionales</b>		
T1. Clorotalonil	2 g/L	Contacto
T 2. Mancozeb	2 g/L	Contacto
T 3. Oxidloruro de cobre	2 g/L	Contacto
T 4. Benomilo+ Oxidloruro de cobre	2 g/ L	Sistémico (Benomilo)
<b>Alternativos</b>		
T 5. Acibenzolar-S-methyl	100 mg/L	Inductor de resistencia sistémica adquirida (SAR*)
T 6. Dióxido de hidrógeno	5 mL/L	Contacto
T 7. Bicarbonato de potasio	5 g/L	Contacto
T 8. Aceite del árbol de Té ( <i>Melaleuca alternifolia</i> )	6 mL/L	Contacto
T9. Control	...	...

\*Systemic acquired resistance.

## 2.2. Programa de aplicaciones.

Durante los dos años de evaluaciones (2014 y 2015), se realizaron en total siete aplicaciones de forma individual de cada producto, excepto para T4 (dos aplicaciones de Benomilo y cinco de Oxiclورو de cobre). La primera aplicación fue de Benomilo, alternado con aplicaciones de Oxiclورو de cobre. La segunda aplicación de Benomilo fue en floración y desarrollo de cálices (aplicación número 3). En el ciclo 2015 se realizaron cambios al programa de aplicación. Estos consistieron en brindar mayor protección a la parte comercial del cultivo (cálices) en estados avanzados de madurez (Cuadro 2), debido a que en el ciclo 2014, se detectó que este periodo fue el más susceptible al daño por el patógeno.

**Cuadro 2.** Programa de aplicaciones de productos químicos, para el control del manchado de hojas y cálices de jamaica, en condiciones de campo, en Guerrero.

Localidad	Programa de aplicación (2014)			Programa de aplicación (2015)		
	Fecha de aplicación	Intervalo (días)	Etapa fenológica	Fecha de aplicación	Intervalo (días)	Etapa fenológica
Ayutla	03 oct	14	Desarrollo	20 oct	14	Desarrollo
Tecoanapa	04 oct		vegetativo	21 oct		vegetativo
Ayutla	17 oct	14	Desarrollo	04 nov	14	Desarrollo
Tecoanapa	18 oct		vegetativo	05 nov		vegetativo
Ayutla	31 oct	14	Desarrollo	18 nov	14	Floración y
Tecoanapa	01 nov		vegetativo	19 nov		desarrollo de cálices
Ayutla	15 nov	14	Floración y	25 nov	7	Desarrollo de
Tecoanapa	16 nov		desarrollo de cálices	26 nov		cálices



Ayutla	22 nov	7	Desarrollo	03 dic	7	Desarrollo de
Tecoanapa	23 nov		de cálices	04 dic		cálices
Ayutla	30 nov	7	Desarrollo	10 dic	7	Desarrollo de
Tecoanapa	01 dic		de cálices	11 dic		cálices
Ayutla	7 dic	7	Desarrollo	17 dic	7	Desarrollo y
Tecoanapa	8 dic		de cálices	18 dic		madurez de cálices
						(próximo a la cosecha)

---

### 2.3. Diseño experimental.

El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental quedó integrada por 4 surcos de 1 x 4 m de ancho/largo. Cada surco estuvo conformado por seis matas a una distancia de 0.80 m, en cada mata hubo tres plantas. La parcela útil fueron los dos surcos centrales. Para evitar la interacción entre tratamientos, existió una separación de 2 m entre bloques.

### 2.4. Variables evaluadas.

Se evaluó la severidad en hojas y cálices con ayuda de dos escalas logarítmicas diagramáticas, con las que se calculó el porcentaje de tejido lesionado, para hojas y cálices (Ortega-Acosta *et al.*, 2016). Por cada parcela útil, se seleccionó una planta de cada mata, y se dividió en tres estratos de acuerdo a Villanueva-Couoh *et al.* (2005), en cada estrato se evaluaron tres hojas o cálices según la etapa fenológica del cultivo. Se realizaron cinco evaluaciones en hojas, y tres para cálices. La parcela útil se cosechó y se estimó el peso fresco y seco para cada tratamiento.

La temperatura y humedad relativa se registraron con un datalogger (HobooWare®), durante el periodo de estudio.

## 2.5. Análisis de datos.

La severidad absoluta, fue transformada a grados de infección (%) en base a la fórmula descrita por Townsend y Heuberger (1943):

$$\text{Grado de infección (\%)} = \sum_1^i (n_i \times v_i) / N \times V$$

Donde  $v_i$  es daño en la clase,  $n_i$  es el número en una clase, N es el número total de observaciones, V valor más alto de clases,  $i$  es el número de clases.

Los grados de infección de la severidad acumulada en hojas y cálices, y el peso fresco y seco para cada tratamiento fueron sometidos a un análisis de varianza y pruebas de separación de medias con el logaritmo (log) de cada valor (con ajustes de Tukey-Kramer por multiplicidad) con un nivel de significancia de 0.05. El análisis fue realizado con en el paquete estadístico SAS. Ver. 9.4.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El manchado de hojas y cálices se presentó en altos niveles de severidad durante los dos periodos de evaluaciones (2014 y 2015). Las condiciones ambientales, fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad. Los promedios de temperaturas y humedades relativas en Tecoaapa en 2014 para octubre, noviembre y diciembre fueron de: 25.68°C y 92.34%, 25.56°C y 83.67%, y 25.01°C y 73.78%, respectivamente; para Ayutla fueron de; 25.35°C y 95.67%, 26.03°C y 84.39%, y 26.09°C y 71.46%, respectivamente. Durante el ciclo 2015, los promedios de temperatura y humedad relativa en Tecoaapa, para octubre, noviembre y diciembre fueron de: 28.24°C y 80.32%, 25.73°C y 84.65%, y 26.41°C y 78.8%, respectivamente; para Ayutla estas fueron de; 27.01°C y 94.03%, 27.42°C y 86.77%, y 26.45°C y 81.06%, respectivamente. Con base a lo reportado por Onesirosan *et al.* (1974) y Teramoto *et al.* (2013) en general estas condiciones son favorables para *Corynespora cassiicola*, causante de la enfermedad.

Durante los dos ciclos consecutivos de evaluaciones, los análisis estadísticos mostraron que Mancozeb, Clorotalonil y Benomilo + Oxiclورو de cobre, promovieron la menor severidad en

hojas y cálices, comparado con el tratamiento control (Cuadro 3). Los fungicidas a base de Mancozeb, Clorotalonil y Benomilo han sido efectivos en el control de *Corynespora cassiicola* en otros cultivos (Pernezny *et al.*, 2002; Pernezny *et al.*, 2008; Nejo *et al.*, 2007; Tun-Suarez, 2011), lo que coincide con lo determinado en el presente estudio.

Las aplicaciones individuales de Oxiclورو de cobre redujeron moderadamente la severidad de hojas y cálices (Cuadro 3), resultados similares fueron determinados por Mehrotra (1989) y Manju *et al.* (2002) en el control de *Corynespora cassiicola* sobre *Ceiba pentandra* C.F. Gaertn. y *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg., respectivamente. Además, Godoy *et al.* (2016) evaluaron Mancozeb y Oxiclورو de cobre en condiciones de campo para controlar *Corynespora cassiicola* en soya. Como resultado, ellos determinaron que Mancozeb presentó un mayor control de la enfermedad que Oxiclورو de cobre.

El Chlorothalonil y Mancozeb son fungicidas de amplio espectro, utilizados para el control de diversos patógenos incluyendo a *C. cassiicola* en cultivos como el jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Jones y Jones, 1984; Pernezny, 2002), haba (*Vicia faba* L.) (Ahmed, 2016), fresa (*Fragaria X ananassa* Duch) (Kosowski *et al.*, 2001), uva (*Vitis vinifera* L.) (Nita *et al.*, 2006), y otros cultivos (Gullino *et al.*, 2010; Erincik *et al.*, 2016).

En el presente estudio, el uso de Benomilo con dos aplicaciones, alternado con Oxiclورو de cobre, resultó en un control eficaz, al reducir los niveles de severidades en hojas y cálices (Cuadro 3). Con base a las recomendaciones de FRAC (2016), cuando se trata de fungicidas tales como el Benomilo, sugieren reducir el número de aplicaciones durante el ciclo de cultivo, con el propósito de evitar el desarrollo de resistencia en las poblaciones de fitopatógenos. Por esta razón, en el presente estudio, únicamente se realizaron dos aplicaciones de Benomilo, alternado con Oxiclورو de cobre. En Nigeria, el Benomilo ha mostrado tener un buen control de *Coniella musaiensis* var. *hibisci* B. Sutton, patógeno de la jamaica (Nejo *et al.*, 2007; Apeyuan *et al.*, 2016).

El Oxiclóruo de cobre, fue el menos efectivo de los productos convencionales, sin embargo, resultó efectivo cuando se alternó con aplicaciones de Benomilo. Este tratamiento (Oxiclóruo de cobre) es autorizado en programas de manejo orgánico en algunos cultivos como cucurbitáceas (*Cucurbita* spp.) (Marine *et al.*, 2016), en el control de patógenos foliares. Su efectividad para el control de *C. cassiicola* en el presente estudio fue moderada; no obstante, su eficacia pudiera mejorar, si se incorpora junto con otras prácticas de manejo del cultivo.

Los productos alternativos (Cuadro 1), en general promovieron un efecto moderado en el control de la enfermedad (Cuadro 3), al reducir los niveles de severidad de la enfermedad comparado con el tratamiento control; resultados similares fueron determinados por Beckett *et al.* (2005), al evaluar los productos a base de Bicarbonato de potasio, Dióxido de hidrógeno y Asibenzolar-S-Methyl para el control de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en jitomate; determinaron que estos productos fueron menos efectivos comparado con Dimethomorph/Mancozeb y Fosetyl-Aluminio. Pero debido a las ventajas que ofrecen estos productos (Bicarbonato de potasio, Dióxido de hidrógeno y Asibenzolar-S-Methyl), resultan prometedores para ser incorporados como parte de un programa de manejo de la enfermedad. Al respecto, Marine *et al.* (2016), evaluaron la combinación de Dióxido de hidrógeno + Oxiclóruo de cobre y otros productos biorracionales, en un programa de manejo orgánico del cultivo de calabacita, para el control de *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & M.A. Curtis) Rostovzev y *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff, y determinaron un control moderado de la enfermedad comparado con el tratamiento control.

En los tratamientos alternativos (cuadros 1 y 3), el producto a base de Acibenzolar-S-methyl mostró una tendencia en reducir los niveles de severidad en hojas y cálices, por lo que, de este grupo es el tratamiento que sobresale. Otros autores han demostrado un efecto similar con el uso de Acibenzolar-S-methyl, por ejemplo; Obanor *et al.* (2013), evaluaron el Acibenzolar-S-methyl

para el control de *Spilocaea oleagina* (Castagne) S. Hughes, inductor de la mancha del olivo (*Olea europea* L.), determinaron una efectividad ligeramente menor comparada con Sulfato de cobre, sin embargo estos autores sugieren el uso de Acibenzolar-S-methyl en programas de manejo de la enfermedad, por las ventajas que ofrece (un producto de bajo riesgo).

Las modificaciones realizadas al calendario de aplicaciones en el periodo de evaluación del ciclo 2015, que consistieron en reducir los intervalos de aplicaciones de fungicidas en el periodo más susceptible (noviembre y diciembre), con el propósito de ofrecer mayor protección a la parte comercial (cálices), generalmente, redujeron ligeramente la severidad de la enfermedad; sin embargo, estadísticamente presentaron un comportamiento similar al determinado en 2014 (Cuadro 3). Esto posiblemente fue debido a la presencia de lluvias irregulares en noviembre y diciembre de 2015, que coincidió con la etapa de mayor susceptibilidad de los cálices.

**Cuadro 3.** Efecto de la aplicación foliar de productos químicos para el control del manchado de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en condiciones de campo, durante los ciclos 2014 y 2015 en Ayutla y Tecuanapa, Guerrero.

Tratamiento	Severidad en hojas				Severidad en cálices			
	Ayutla		Tecuanapa		Ayutla		Tecuanapa	
	2014 <sup>§</sup>	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
Clorotalonil	4.83 <sup>‡</sup> c <sup>S</sup>	4.81 c	4.79 ed	4.76 d	2.26 c	2.41 c	2.14 c	2.14 c
Mancozeb	4.82 c	4.76 c	4.73 e	4.71 d	2.41 c	2.34 c	2.14 c	2.10 c
Oxicloruro de cobre	5.03 bc	4.99 bc	4.89 c	4.82 cd	3.69 b	3.28 bc	3.30 bc	2.84 bc
Benomilo + Oxicloruro de cobre	4.92 c	4.85 c	4.82 d	4.80 d	2.71 c	2.4 c	2.24 c	2.16 c
Acibenzolar-S-Methyl	5.05 abc	5.07 ab	4.88 c	4.93 bc	3.90 ba	3.83 b	3.28 b	3.18 b
Dióxido de hidrógeno	5.12 ab	5.11 ab	5.00 b	4.95 b	3.95 ba	3.85 b	3.48 ba	3.40 ba
Bicarbonato de potasio	5.13 ab	5.10 ab	5.03 b	4.98 b	3.82 b	3.79 b	3.34 ba	3.28 ba
Aceite del árbol del Té	5.12 ab	5.10 ab	4.98 b	4.96 b	4.00 ba	3.94 b	3.48 ba	3.35 ba
Control	5.35 a	5.42 a	5.30 a	5.26 a	4.28 a	5.30 a	3.94 a	4.40 a

<sup>§</sup>Año de evaluación.

<sup>‡</sup>Logaritmo del porcentaje de infección de la severidad.

<sup>S</sup>Separación de medias, Tukey-Kramer  $\alpha=0.05$

**Cuadro 4.** Efecto de la aplicación foliar de productos químicos en el peso fresco y seco de cálices, en condiciones de campo en Ayutla y Tecuanapa, Guerrero, México.

Tratamientos	Ayutla 2014 <sup>§</sup>		Ayutla 2015		Tecuanapa 2014		Tecuanapa 2015	
	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco
Clorotalonil	7.95 <sup>¥</sup> a <sup>§</sup>	5.89 a	8.14 a	6.03 a	8.17 a	6.06 a	7.92 a	5.78 a
Mancozeb	7.90 a	5.82 a	8.13 a	6.02 a	8.15 a	6.05 a	7.95 a	5.78 a
Oxicloruro de cobre	7.56 ab	5.49 ab	7.89 ab	5.90 bc	8.03 ab	5.92 ab	7.60 ab	5.47 ab
Benomilo + Oxicloruro de cobre	7.86 a	5.77 a	8.08 a	6.01 a	8.13 a	6.00 a	7.79 a	5.72 a
Acibenzolar-S-Methyl	7.36 ab	5.29 abc	7.63 bc	5.81 bc	7.90 ab	5.81 ab	7.43 ab	5.35 bc
Dióxido de hidrógeno	7.24 b	5.18 bc	7.60 bc	5.64 bd	7.74 b	5.65 bc	7.34 ab	5.26 bcd
Bicarbonato de potasio	7.41ab	5.34 abc	7.62 bc	5.80 bd	7.90 ab	5.81 abc	7.49 ab	5.29 bcd
Aceite del árbol del Té	7.38 ab	5.31 abc	7.63 bc	5.89 bd	7.97 ab	5.88 abc	7.43 ab	5.40 bc
Control	7.13 b	5.05 c	7.41c	5.62 d	7.72 b	5.62 bc	7.19 b	5.10 d

<sup>§</sup>Año de evaluación

<sup>¥</sup>Logaritmo del peso.

<sup>§</sup> Separación de medias, Tukey-Kramer  $\alpha=0.05$

Por otra parte, el mayor peso fresco y seco de cálices se determinó en aquellos tratamientos que promovieron los menores niveles de severidad en hojas y cálices (Clorotalonil, Mancozeb y Benomilo+Oxicloruro de cobre) (Cuadro 3 y 4). Al respecto, Nejo *et al.* (2007) y Apeyuan *et al.* (2016) evaluaron el fungicida Benomilo contra *Coniella musaiensis* y determinaron que los tratamientos en donde se suministró el fungicida, las plantas de jamaica presentaron un mejor peso de cálices. Además, de otros trabajos como los realizados por Godoy *et al.* (2013) en el cultivo de

soya en ensayos de fungicidas contra *Corynespora cassiicola* causante del manchado. Estos autores determinaron que las parcelas tratadas con fungicidas mostraron mayor rendimiento comparado con el tratamiento control. Esto coincide a lo determinado en el presente estudio.

#### **4. CONCLUSIONES**

Los productos a base de Mancozeb, Clorotalonil y Benomilo+Oxicloruro de cobre, fueron los más efectivos para reducir el daño inducido por *Corynespora cassiicola* en hojas y cálices de jamaica, además; estos tratamientos registraron el mayor peso fresco y seco de cálices. Los productos alternativos tuvieron un efecto moderado en la reducción de severidad de la enfermedad.

#### **5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.**

- Ahmed S, Abang MM and Maalouf F. 2016. Integrated management of ascochyta blight (*Didymella fabae*) on faba bean under Mediterranean conditions. *Crop Protection* 81: 65-69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2015.12.013>.
- Apeyuan KD, Nwankiti AO, Oluma HOA and Ekefan EJ. 2016. Comparative effect of foliar application of cow dung, wood ash and benlate on the disease initiation and development of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) leaf spot disease caused by *Coniella musaiensis* Var. *Hibisci*. in Makurdi, Central Nigeria. *Journal of Geoscience and Environment Protection*. 4: 26-32. <http://dx.doi.org/10.4236/gep.2016.48003>.
- Beckett MC, Daughtrey ML and Fry WE. 2005. Epidemiology and management of petunia and tomato late blight in the greenhouse. *Plant Dis*. 89:1000-1008. <https://doi.org/10.1094/pd-89-1000>.



- Cromwell LM, Berkett PL and Darby MH. 2011. Alternative organic fungicides for apple scab management and their non-target effects. *Hortscience* 46(9):1254–1259. <http://hortsci.ashspublications.org/content/46/9/1254.full.pdf+html>.
- Erincik O, Daldal M and Ozkul Y. 2016. Efficacy and timing of application of fungicides for plum rust control in Turkey. *Crop Protection* 88: 88-95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.06.013>.
- FRAC. 2016. Fungicide Resistance Action Committee. List of Plant pathogenic organisms resistant to disease control agents. *Crop Life, Brussels*. Belgium. Disponible en: <http://www.frac.info/>. Consultado en octubre de 2016.
- Godoy CV, Utiamada CM, Meyer MC, Campos HD, Pimenta DS, Miguel-Wruck CB and Borges EP. 2016. Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo, *Corynespora cassiicola*, na Safra 2015/16: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular Técnica, 120. *Embrapa Soja, Londrina*. 6 p.
- Godoy CV, Utiamada CM, Meyer MC, Campos HD, Pimenta DS, Miguel-Wruck CB and Borges EP. 2013. Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo, *Corynespora cassiicola*, na Safra 2012/13: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular Técnica, 100. *Embrapa Soja, Londrina*. 6 p.
- Gullino ML, Tinivella F, Garibaldi A, Kemmitt GM, Bacci L and Sheppard B. 2010. Mancozeb: past, present, and future. *Plant Dis.* 94 (9): 1076-1087. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-94-9-1076>.
- Kososki RM, Furlanetto C, Tomita CK and Filho ACC. 2001. Effect of fungicides on *Colletotrichum acutatum* and field control of strawberry flower blight. *Fitopatol. Bras.* 26:662-666. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582001000300016>.

- Manju MJ, Jacob CK, Idicula SP and Vinod KK. 2002. Corynespora leaf fall disease management in Hevea using oil-dispersible and dust fungicide formulations. *Indian Journal of Natural Rubber Research*, 15(1), 44-48.
- Mantil E, Daly G and Avis JT. 2015. Effect of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil as a natural antimicrobial agent in lipophilic formulations. *Canadian Journal of Microbiology* 61(1): 82-88. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0667>
- Marine SC, Newark MJ, Korir RC and Everts KL. 2016. Evaluation of Rotational Biopesticide Programs for Disease Management in Organic Cucurbit Production. *Plant Dis.* 100(11): 2226-2233. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-02-16-0252-RE>.
- Marku L, Vrapit H and Hasani M. 2014. Effect of potassium bicarbonate (Armicarb) on the control of apple scab (*Venturia inaequalis*) in the region of Puka in Albania. *International Refereed Journal of Engineering and Science* 3 (6): 25-30.
- Marrone PG. 2009. Barriers to adoption of biological control agents and biological pesticides. pp. 163-178. *in: Integrated Pest Management: Concepts, Tactics, Strategies and Case Studies* Radcliffe, E.B., Hutchison, W.D., and Cancelado, R.E. eds. Cambridge University Press, Cambridge.
- Mehrotra MD. 1989. *Corynespora cassiicola* leaf spot of *Ceiba pentandra* and its control in the Nursery. *India Forest* 115 (12): 905-909.
- Nejo OJ, Adeoti AYA, Popoola AR and Kehinde IA. 2007. Effect of foliar application of fungicides on incidence and severity of leaf spot disease of roselle induced by *Coniella musaiaensis* B. Sutton var. *hibisci*. *Moor Journal of Agricultural Research* 8: 263-67.
- Nita M, Ellis MA, Wilson LL and Madden LV. 2006. Effects of application of fungicide during the dormant period on *Phomopsis* cane and leaf spot of grape disease intensity and inoculum production. *Plant Dis.* 90:1195-1200. <http://dx.doi.org/10.1094/PD-90-1195>.

- Ortega-Acosta SÁ, Velasco-Cruz C, Hernández-Morales J, Ochoa-Martínez DL and Hernández-Ruiz J. 2016. Escalas logarítmicas diagramáticas para evaluar la severidad del manchado de hojas y cálices de jamaica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 270-285. doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1606-6.
- Ortega-Acosta SÁ, Hernández-Morales J, Ochoa-Martínez DL and Ayala-Escobar V. 2015. First report of *Corynespora cassiicola* causing leaf and calyx spot on roselle in Mexico. *Plant Dis.* 99(7):1041. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-04-14-0438-pdn>.
- Obanor OF, Walter M, Eirian JE and Jaspers VM. 2013. Efficacy of systemic acquired resistance inducers in olive leaf spot management. *Australasian Plant Pathol.* 42:163–168. <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0186-7>
- Onesirosan PT, Army DC and Durbin RD. 1974. Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 64:1364-1367. <https://doi.org/10.1094/phyto-64-1364>.
- Pernezny K, Stoffella P, Collins J, Carroll A and Beaney A. 2002. Control of target spot of tomato with fungicides, systemic acquired resistance activators, and a biocontrol agent. *Plant Protection Science.* 38 (3): 81–88.
- Pernezny K, Stoffella P, Collins J, Carroll A and Beany A. 2003. Control of target spot of tomato with fungicides, systemic acquired resistance activators, and a biocontrol agent. *Plant Protect. Sci.* 38:81-88.
- SIAP. 2015. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Disponible en: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=351](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351). Consultado en julio de 2016.

- Teramoto A, Parisi MCM and Cunha GM 2013. Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassicola*. *Tropical Plant Pathology* 38(4):313-322. <https://doi.org/10.1590/s1982-56762013005000012>
- Townsend GR and Heuberger JW. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicides experiments. *Plant Disease Reporter* 27: 340-343.
- Tun-Suárez JM, Castillo-Peraza ME, Cristóbal-Alejo J y Latournerie-Moreno L. 2011. Etiología de la mancha foliar del chile dulce (*Capsicum annuum* L.) y su control in vitro en Yucatán, México. *Fitosanidad* 15 (1) 05-10.
- Villanueva-Couoh E, Sánchez-Briceño, MÁ, Cristóbal-Alejo J, Ruiz-Sánchez E y Tún-Suárez, JM. 2005. Diagnóstico y alternativas de manejo químico del tizón foliar (*Alternaria chrysanthemi* Simmons y Crosier) del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) Kitamura en Yucatán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23:49-56. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/612/61223107.pdf>.