



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

**ETIOLOGÍA E INCIDENCIA DE HONGOS ASOCIADOS AL
MANCHADO DE CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)
EN GUERRERO, MÉXICO.**

CINTHIA MARTÍNEZ SÁNCHEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada: **ETIOLOGÍA E INCIDENCIA DE HONGOS ASOCIADOS AL MANCHADO EN CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) EN GUERRERO, MÉXICO**, realizada por la alumna: **Cinthia Martínez Sánchez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

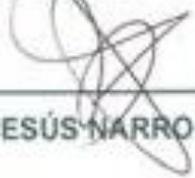
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DR. JAVIER HERNÁNDEZ MORALES

ASESORA: 
M.C. VICTORIA AYALA ESCOBAR

ASESORA: 
DRA. DOLORES VARGAS ALVAREZ

ASESOR: 
DR. CARLOS HUGO AVENDAÑO ARRAZATE

ASESOR: 
M.C. JESÚS NARRO SÁNCHEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre de 2010

ETIOLOGÍA E INCIDENCIA DE HONGOS ASOCIADOS AL MANCHADO DE CÁLICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) EN GUERRERO, MÉXICO.

Cinthia Martínez Sánchez, Mc.

Colegio de Postgraduados, 2010

El cultivo de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) es una de las actividades agrícolas importantes en el estado de Guerrero, así como una de las principales fuentes de ingresos monetarios y una alternativa para la diversificación de la actividad agrícola de la región. Este cultivo, en las zonas productoras de Guerrero, se ha visto afectado en los años recientes, por una enfermedad que se caracteriza por un manchado en la superficie del cáliz, situación que afecta a los productores a la hora de comercializar el producto. Por esta razón se realizó el presente trabajo de investigación con la finalidad de conocer los causantes de la enfermedad así como la incidencia y severidad. Los hongos que se asocian a la enfermedad son *Coniella musaiaensis* (Sutton) var. *hibisci*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl, *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei y *Phomopsis* sp. Dearn. La incidencia final de la enfermedad en Huamuchitos fue de 75 %, y en Xalpatláhuac fue de 59 %. Con una severidad final de 42 % y 18.6 % en Huamuchitos y Xalpatláhuac, respectivamente.

Palabras clave: *Coniella musaiaensis* var. *hibisci*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Corynespora cassiicola* y *Phomopsis* sp., identificación, severidad.

**ETIOLOGY AND INCIDENCE OF ASSOCCAIATED FUNGY OF SPOTTED CALYCES
OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.) IN GUERRERO, MÉXICO.**

Cinthia Martínez Sanchez, Mc.

Colegio de Postgraduados, 2010

The crop of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) is one of the major agricultural activities in Guerrero, as well as a major source of monetary income and an alternative for diversification of agriculture in the region. This crop, in the producing areas of Guerrero, has been affected in recent years, a disease characterized by a spotted on the surface of the cup, which affects producers when marketing the product. For this reason was made this research with the purpose of ascertaining the cause of the disease and the incidence and severity. The fungi that are associated with the disease are *Coniella musaiaensis* (Sutton) var. *hibisci*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl, *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei and *Phomopsis* sp. Dearn. The final incidence of disease was 75% Huamuchitos, and Xalpatláhuac was 59%. With a final severity of 42 % and 18.6 % in Huamuchitos and Xalpatláhuac, respectively.

Additional keywords: *Coniella musaiaensis* var. *hibisci*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Corynespora cassiicola* y *Phomopsis* sp., identification, severity.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento para mis estudios de Maestría en Ciencias en Fitopatología.

Al Colegio de Postgraduados y al Instituto de Fitosanidad por haberme brindado su hospitalidad.

A los miembros de mi consejo particular: Dr. Javier Hernández Morales, Mc. Victoria Ayala Escobar, Dr. Carlos Avendaño Arrazate, Dra. Dolores Vargas Alvarez y Mc. Jesús Narro Sánchez, por su apoyo incondicional en todo momento.

A los Señores Fausto Estrada y Heriberto Cano, por permitirme trabajar en sus tierras y llevar a cabo la presente investigación.

A mis profesores de la especialidad de Fitopatología, por experiencias y conocimientos aportados.

A los Dr's Christian Nava Díaz y Daniel Téliz Ortiz, por sus grandes consejos, proporcionándome alternativas y por escucharme.

A Leticia Robles Yerena, Berenice Alonso Barrera y Noemí de la Rosa Sánchez, amigas que me llevaré en el corazón por siempre.

DEDICATORIA

A Dios, que está en todas partes (Salmo 23: 1-3).

A mis padres Andrés y Reyna, que ciegamente me apoyan y creen en mi, a cualquier paso que doy en la vida.

A mi hermano Andy Martínez, que vive y lucha por sobresalir a su manera.

A toda mi familia, los Martínez y los Sánchez.

ESPECIALMENTE A MI ABUELITO

ANDRES GUADALUPE MARTÍNEZ FUENTES

1932-2008

Todos nuestros pensamientos están con él para siempre

Hasta el día en que volvamos a estar de nuevo juntos.

*Patro nia, kiu estas en la ĉielo,
sanktigata estu Via nomo.
Venu Via regno.
Fariĝu Via volo,
kiel en la ĉielo, tiel ankaŭ sur la tero
Nian panon ĉiutagan donu al ni hodiaŭ.
Kaj pardonu al ni niajn ŝuldojn,
kiel ankaŭ ni pardonas al niaj ŝuldantoj.
Kaj ne konduku nin en tenton,
sed liberigu nin de la malbono.
Ĉar Via estas la regno kaj la potenco
kaj la gloro eterne.*

Amen

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	ii
GENERAL SUMMARY	iii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Origen y descripción del cultivo.....	1
Clasificación botánica.....	2
Panorama económico de la jamaica.....	3
Producción mundial.....	3
Producción nacional.....	3
Producción estatal.....	4
Condiciones ecológicas en las que se desarrolla la jamaica.....	4
Composición química.....	6
Propiedades y usos de la jamaica.....	6
Parámetros de calidad.....	7
Problemas fitosanitarios de la jamaica.....	8
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos.....	11
Hipótesis.....	11
LITERATURA CITADA	12
CAPÍTULO I. ETIOLOGÍA DEL MANCHADO EN CÁLCICES DE JAMAICA (<i>Hibiscus sabdarriffa</i> L.) EN DOS ZONAS PRODUCTORAS DEL ESTADO DE GUERRERO	17
RESUMEN	17
ABSTRACT	18
1.1 INTRODUCCIÓN	19
1.2 MATERIALES Y MÉTODOS	21
Descripción del área de estudio.....	21
Toma de muestras de material enfermo.....	21
Identificación de los agentes causales.....	21
Prueba de patogenicidad e identificación de reisolamientos.....	23
1.3 RESULTADOS	26
Identificación de los agentes causales.....	26
Pruebas de patogenicidad e identificación de organismos reisolados.....	29

1.4 DISCUSIÓN.....	39
1.5 CONCLUSIÓN.....	43
1.6 LITERATURA CITADA.....	44
CAPITULO II. INCIDENCIA Y SEVERIDAD DEL MANCHADO DE CALICES DE JAMAICA EN DOS ZONAS PRODUCTORAS DEL ESTADO DE GUERRERO.....	50
RESUMEN.....	50
ABSTRACT.....	51
2.1 INTRODUCCIÓN.....	52
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	54
Establecimiento de los sitios de estudio.....	54
Determinación de la incidencia.....	54
Determinación de la severidad.....	55
Elaboración de una escala logarítmica diagramática de severidad para evaluación de cálices.....	57
2.3 RESULTADOS.....	59
Determinación de la incidencia.....	59
Determinación de la incidencia en Huamuchitos.....	59
Determinación de la incidencia en Xalpatláhuac.....	62
Determinación de la severidad.....	66
Elaboración de una escala logarítmica diagramática de severidad para evaluación de cálices.....	67
2.4 DISCUSIÓN.....	72
2.5 CONCLUSIÓN.....	77
2.6 LITERATURA CITADA.....	78
ÁPENDICE.....	84

ÍNDICE DE CUADROS

		Página
Cuadro 1.	Ubicación de los sitios de estudio.....	21
Cuadro 2.	Tratamientos evaluados en las pruebas de patogenicidad en Tecoaapa, Guerrero el 30 de Noviembre de 2009.....	24
Cuadro 3.	Lesiones desarrolladas en cálices de jamaica inoculados con los diferentes tratamientos.....	31
Cuadro 4.	Resultados de las pruebas de patogenicidad y organismos reaislados de los cálices de jamaica inoculados en guerrero el 30 de Noviembre de 2009.....	32
Cuadro 5.	Características de los sitio de estudio seleccionados.....	54
Cuadro 6.	Valores numéricos en porcentajes expresando grado de infección en plantas por cada sitio de estudio.....	55
Cuadro 7.	Escala provisional para evaluar la severidad del machado en cálices de jamaica sin cosechar. (Modificada de Torres (2004), Otero <i>et al.</i> (2007) y Martínez <i>et al.</i> (2008)).....	56
Cuadro 8.	Incidencia final en el sitio de estudio Huamuchitos.....	61
Cuadro 9.	Incidencia final en el sitio de estudio Xalpatláhuac.....	63
Cuadro 10.	Severidad del manchado en cálices de jamaica durante el periodo de producción verano-otoño 2008 en Huamuchitos y Xalpatláhuac.....	67
Cuadro 11.	Punto medio, límite inferior y superior de una escala logarítmica con 7 clases y 60 % de severidad máxima obtenida mediante el programa 2LOG para medir la mancha negra en el cáliz de jamaica (<i>H. sabdariffa</i> L.).....	68
Cuadro 12.	Coefficientes de correlación (r^2) y parámetros de exactitud (b_1) de cálices de <i>H. sabdariffa</i> con síntomas de manchado con la escala logarítmica diagramática propuesta.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Síntomas de manchas negras y blancas en cálices de jamaica. A y B, mb = manchas blancas en la superficie del cáliz; C y D, mn = manchas negras de diferentes tamaños en la superficie del cáliz.....	26
Figura 2.	Hongos patogénicos asociados en cálices de jamaica, aislados de cálices con síntomas de manchado. A) Cáliz con síntoma de manchas negras, B) <i>Coniella</i> sp., C) <i>Phomopsis</i> sp., D) <i>Corynespora</i> sp., E) <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	29
Figura 3.	Resultados de las pruebas de patogenicidad en Tecoaapa, Guerrero el 30 de Noviembre de 2009.....	30
Figura 4.	<i>Coniella musaiaensis</i> Sutton var. <i>hibisci</i> . A y B, cortes transversales de picnidios; C y D, conidios. A= 200 μ m, C=100 μ m, D=12.18 μ m.....	33
Figura 5.	<i>Phomopsis</i> sp. A, conidios α ; B, conidios β ; C y D, micelio hialino; E y F, cortes transversales de conidiómatas estromáticos con cavidad picnidial de diferentes formas. A= 6.29 y 6.49 μ m, E=100 μ m, F=50 μ m.....	35
Figura 6.	<i>Corynespora cassicola</i> . A, conidio (co) pegado al conidióforo (cf); B, conidióforo con proliferaciones (pr), C, micelio; D, conidio recto y alargado; E, conidio grueso en la base y alargado hacia el ápice. E=50 μ m.....	37
Figura 7.	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> . A, Conidios maduros, uniseptados, y con estrías (ce); B, grosor de la estructura estromática (gp); C, estructura estromática picnidial con micelio color marrón; D, conidios inmaduros (ci). A=20 μ m; B=50 μ m.....	38
Figura 8.	Incidencia no acumulada del manchado en cálices de jamaica en Huamuchitos, Acapulco, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.....	61
Figura 9.	Incidencia acumulada del manchado en cálices de jamaica en: Huamuchitos, Acapulco, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.....	62
Figura 10.	Incidencia no acumulada del manchado en cálices de jamaica en Xalpatláhuac, Tecoaapa, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.....	64
Figura 11	Incidencia acumulada del manchado en cálices de jamaica en: Xalpatláhuac, Tecoaapa, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.....	64
Figura 12.	Incidencia acumulada del manchado en cálices de jamaica Huamuchitos y Xalpatláhuac, Guerrero, en el periodo del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.....	65
Figura 13.	Escala logarítmica diagramática para la evaluación de la severidad de la mancha negra en cálices de jamaica en	

	Guerrero, México. Los números 0-6 indican las clases y el porcentaje correspondiente al valor medio de clase. Los intervalos de cada clase se muestran en el cuadro 11.....	70
Figura 14.	Análisis de regresión entre la severidad estimada con apoyo de la escala diagramática considerando el valor medio por nivel contra la severidad real medida a través de análisis de imagen. E= Evaluador.....	71

Este trabajo estuvo parcialmente financiado por el proyecto: **Generación de técnicas para el manejo integral de la cadena productiva de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en México**, como parte del subproyecto **“Metodología para generar el paquete tecnológico de control de la enfermedad conocida como ‘pata prieta’ de la jamaica y etiología de otras enfermedades del cultivo”**, bajo un convenio celebrado entre el INIFAP y el Colegio de Postgraduados.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Origen y descripción del cultivo

De acuerdo a los estudios realizados por Purseglove (1974), la jamaica es nativa de África, sin embargo, Morton (1987) menciona que es originaria del Continente Asiático (posiblemente de la India y Malasia); posteriormente es llevada a países africanos. Se le encuentra también en Egipto y Sudán hasta Senegal. En Asia se tienen datos de su cultivo al menos desde hace tres siglos. Eventualmente fue adaptada para su cultivo en regiones tropicales y subtropicales en diferentes países de Centro y Sudamérica, traída por los esclavos en la época colonial, llegó a Brasil en el siglo XVII. En Jamaica aparece en el año de 1707, fue introducido a México por los españoles en la Época Colonial (S. XVI y XVII) (Morton, 1987).

Howard y Howard (1924) describen a la jamaica como un arbusto anual, que puede alcanzar hasta 3 m de altura aproximadamente, con tallos lisos muy ramificados, ramas que emergen cerca de la base del tallo; estípulas generalmente simples y lineales; hojas lobuladas simples y lanceoladas, con una glándula en la vena central y margen aserrado; peciolo a menudo con una línea de pelos en la parte superior; pedúnculo solitario; cálices connatos (sépalos unidos), de 5 a 7 sépalos vellosos; epicálices unidos sobre su base y añadidos al cáliz, flores formadas por 8 o 12 bractéolas lineales; el fruto es una cápsula, con semillas reniformes. Esta descripción coincide con la que proporciona Rendón (1992) para esta misma especie.

Clasificación botánica

Cronquist (1981) hace la siguiente clasificación de esta planta:

Reino Plantae

Subreino Tracheobionta

Superdivision Spermatophyta

Division Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Subcalse Dilleniidae

Orden Malvales

Familia Malvaceae

Genero Hibiscus L.

Especie *Hibiscus sabdariffa* L.

Wester (1907) describió tres variedades, las que para ese entonces eran las que más rendimiento daban a Filipinas que fueron rica, victor y archer. Posteriormente se reportan dos variedades más altissima y temprana (Morton, 1987).

De acuerdo a la finalidad de explotación, existe una división de *Hibiscus sabdariffa*, en tres grupos de variedades (Crane, 1943):

a) Productoras de fibra: altísima y bhagalpuriensis

b) Intermedias: intermedius, albus y ruber, de las cuales se obtienen simultáneamente fibras y cálices.

c) Productoras de cáliz: archer, temprana, rico y Víctor.

Panorama económico de la jamaica

Producción mundial

Los principales países productores son China, Sudán, Taiwán, Tailandia e India. (FAO, 2009). México ocupa el séptimo lugar. La producción mundial de jamaica alcanzó cerca de las 100,000 ton en el año de 1999 (SIAP/SIACON, 2009).

Actualmente los países que más demandan este producto son Japón, Estados Unidos, Francia y Alemania, quienes tienen un consumo per cápita de 2.5 kg de jamaica al año y es muy probable que con los descubrimientos de sus propiedades curativas aumenten los mercados para este producto (FAO, 2009).

Particularmente, las exportaciones mexicanas de jamaica en todas sus presentaciones aumentaron 94.5 % del año 2000 al 2005, debido a la demanda internacional y a una mejor cotización del precio de este cultivo. Las exportaciones de jamaica en el año 2000 ascendieron a 16.6 millones de dólares y para el 2005 llegaron a los 32.4 millones de dólares. En México existen empresas exportadoras de jamaica en flor (cálices), jarabes y licores, quienes envían sus productos principalmente a Estados Unidos de América (SIAP/SIACON, 2009).

Producción nacional

En México el consumo de jamaica es de alrededor de 14,000 ton al año, de las cuales aproximadamente el 50% es importada para satisfacer esta demanda. Los países que exportan mayores volúmenes de jamaica a nuestro país son China y Sudán (SAGARPA, 2010).

La superficie cosechada promedio a nivel nacional, durante el año 2009 fue de 19,000 ha en 11 estados de la república mexicana, registrándose una tasa de crecimiento anual del 67%. Del total

de la superficie, 99.9% corresponde al sistema de temporal, mientras que el 1% a riego (SIAP/SIACON, 2009).

México, es reconocido entre los principales países productores de jamaica, el 95% de la producción se comercializa en una presentación de cálices deshidratados, y el resto es ofertado en presentaciones de extracto y mermelada (SAGARPA, 2009)

Los principales estados productores son Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Nayarit. La producción e industrialización de la jamaica, genera 2470000 jornales, con un rendimiento por hectárea de 300 kg a una tonelada según la zona de cultivo. El valor de la producción se calcula en más de 100 millones de pesos (SAGARPA, 2010).

Producción estatal

Durante el periodo comprendido de 2001 a 2005, el estado de Guerrero se ha mantenido como el mayor productor de jamaica en México (SIAP/SIACON, 2009). La superficie cultivada en el 2008 fue de 14,883 ha, en la región de “Costa Chica” la mayor superficie, se localiza en los municipios de Acapulco, Juan R. Escudero, Tecoanapa, Ayutla, Florencio Villarreal, San Marcos, San Luis Acatlán, Cuajinicuilapa y Azoyú. (SAGARPA, 2009).

Condiciones ecológicas en las que se desarrolla la jamaica

El cultivo se puede establecer en suelos de pH de 4.5 a 7.5, que tengan una pendiente no mayor del 50 % y la única condición es que no permanezcan inundados por más de 10 días (Castillo, 2007). De ambientes cálidos, por lo que lugares tropicales y subtropicales son ideales, el crecimiento aceptable de la planta es favorable en el rango de 21 a 25 °C, con luz continua (Castro, 2002). El porcentaje de humedad es de 70 a 80% durante el periodo de crecimiento.

Requiere precipitaciones superiores a los 1800 mm, en suelo fértil aunque también puede desarrollarse en suelos costeros a una altitud de entre 0 a 900 m (Rendón, 1992). El cultivo se ve favorecido cuando el nitrógeno añadido es mayor que el fosforo y el potasio (García, 1995). En México se cultiva de temporal, aunque en algunas regiones ya se está implementando una nueva forma de cultivarla, invernaderos, tal es el caso de Veracruz (Castro, 2002). La preparación del terreno requiere un barbecho a una profundidad de 30 a 40 cm para que el suelo quede suelto y capte el agua sin generar encharcamientos. Posteriormente un rastreo, dejando que la tierra este expuesta al sol unos 30 días para evitar en cierto grado las plagas. Finalmente se lleva a cabo el surcado que tiene una distancia de 90 a 100 cm entre surco y surco. En asociación con maíz, se realiza el mismo procedimiento, estableciendo primero el maíz y posteriormente, se siembra la jamaica entre las hileras. La jamaica es más remunerativa que el maíz, cultivándose en asociación con la finalidad de aprovechar la mano de obra familiar (Ucan, 1993). La siembra se realiza a principios del mes de junio hasta finales de julio (Ucan, 1993), mediante el método de mateo, que consiste en depositar alrededor de 6 a 8 semillas por mata a una distancia de 50 cm entre mata y mata según sea la variedad, la densidad de siembra y la fertilidad del suelo (Castro, 2002). Las principales labores culturales son la primera escarda se realiza cuando las plantas han alcanzado de 10 a 15 cm aproximadamente. La segunda escarda cuando la planta tiene una altura de 30 a 40 cm (Ucan, 1993; Castro, 2002). La cosecha se efectúa a los 15 ó 20 días después de la floración en los meses de diciembre y enero (Ucan, 1993; Castro, 2002). Esto depende de la altura de la zona, en zonas frías es más tardía. Las labores consisten en el corte de varas, acarreo y despique (Rojas, 1999).

Composición química

El cáliz de la jamaica deshidratado contiene 4 % de ácido cítrico, 1.5 % de pigmentos, 6.9 % de proteína y 9 % de sólidos solubles a un pH de 2.7 (Omemu *et al.*, 2006). Los pigmentos antocianos presentes son: delfinidina (70.9 %) y cianidina (29 %) (Gassama-Dia *et al.*, 2004).

Por sus características fisicoquímicas, la jamaica se clasifica como altamente ácida y con bajo contenido de azúcares. El ácido succínico y el oxálico son los ácidos orgánicos predominantes (Fasoyiro *et al.*, 2005). Los cálices deshidratados y molidos tienen un contenido de proteína cruda de 8.6 %, extracto etéreo de 2.9 %, fibra cruda de 9.8 %, cenizas de 6.8 % y ácido ascórbico de 54.8 mg-100 g⁻¹ (Babalola *et al.*, 2001). También contiene riboflavina, niacina, calcio y hierro. Presenta antioxidantes que incluye flavonoides, gosipetina, hibiscetina y sabderetina (Fasoyiro *et al.*, 2005).

Propiedades y uso de la jamaica

De la planta de la jamaica se puede aprovechar casi todo y su importancia reside fundamentalmente en la utilidad o beneficio que de ella se obtiene. Puede considerarse como una planta medicinal, posee una gran cantidad de vitaminas, minerales, entre otras sustancias (Castro, 2002).

Existen muchos informes sobre sus propiedades nutritivas, debido a sus contenidos de vitamina, timina, riboflavina, niacina, ácido ascórbico, así como su aporte en minerales como Hierro, Calcio y Fósforo; se le considera por muchos autores como un alimento muy completo. Otros usos son en la elaboración de mermeladas, confituras, pasteles y como colorante natural en productos medicinales y bebidas alcohólicas. Entre sus propiedades medicinales se destaca como

digestivo, astringente, purgativo, febrífugo, reduce la presión arterial y disminuye el colesterol, es antioxidante, antibacteriano, potencialmente positivo como anticancerígeno y para curar otras enfermedades. Se destaca como alternativa para la prevención y reducción de las grasas en sangre. Para los países que lo cultivan comercialmente representa ingresos millonarios, debido a la alta demanda en los países consumidores, entre los que destacan Alemania, Japón y Estados Unidos (Terán y Soto, 2004)

Varias partes de la planta de la jamaica tienen valor. Las hojas jóvenes son consumidas como verduras principalmente con sopas. Las semillas son molidas y usadas como aderezo o condimento después de someterlo a una cocción (o un calentamiento). El aceite extraído de las semillas es sustituto de un tipo de aceite medicinal con un sabor amargo, mientras que el residuo es usado en sopa o pasteles que requieren de una fermentación. En países como la India y México los cálices se usan para producir bebidas, jaleas, mermeladas, saborizantes y conservas (Fasoyiro *et al.*, 2005).

En México se ha evaluado el uso de extractos de jamaica para tratar a pacientes de 18 a 30 años de edad que padecían niveles moderados de hipertensión. Con la administración diaria de un extracto de jamaica conteniendo de 9.6 mg de antocianinas durante un periodo de cuatro semanas, se logró disminuir la presión sanguínea de los pacientes. La efectividad terapéutica del extracto de jamaica fue de 78.95% y la tolerancia fue del 100 % (Herrera *et al.*, 2004).

Parámetros de calidad

En México existen dos normas mexicanas que hacen referencia al cultivo de la jamaica. La primera es la norma mexicana (NMX-F-601-NORMEX-2002), en ella se establecen las especificaciones de calidad y requisitos de etiquetado que debe cumplir el producto denominado

“té y sus variedades” que se comercializan en territorio nacional. Y la recientemente aprobada norma mexicana (NMX-FF-115-SCFI-2010) que constituye la definición y la clasificación que se utiliza para la flor (cáliz) deshidratada proveniente de la planta de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en donde se establecen las características de calidad y pureza que deben cumplir los cálices de jamaica para consumo humano que se comercializa en el territorio nacional, así como los métodos de evaluación.

Problemas fitosanitarios de la jamaica

Como en cualquier cultivo, una de las limitantes para la producción de la jamaica es el daño causado por plagas y enfermedades.

Entre las principales plagas de este cultivo se mencionan hormiga arriera (*Atta* sp), es una hormiga de color café rojizo de 0.5 a 1.0 cm. de largo; de hábitos nocturnos, la cual deshoja las plántulas, causando pérdida total del cultivo si no se combate a tiempo o bien, reduce los rendimientos al retrasar el desarrollo normal de las plantas, (Hernández y Romero, 1990; Castillo, 2007). Por otra parte, Pushpaveni *et al.*, (1973) mencionan como las plagas de la jamaica y otras plantas de fibra a *Aphis gossypii* (pulgón), *Maconellicoccus hirsutus* (piojo harinoso) y tortuguillas (*Diabrotica* sp).

No obstante del daño que pueden causar los insectos, entre los problemas fitosanitarios de mayor importancia del cultivo, se encuentran las enfermedades entre las que destacan aquellas originadas por hongos (Rendón, 1992), sin descartar las enfermedades que son originadas por otro tipo de microorganismo.

Las enfermedades de raíz y tallos son los principales problemas fitosanitarios en el cultivo de la jamaica, entre las que se encuentran aquellas ocasionadas por: *Rhizoctonia solani*, *Pythium perniciosum*, *Fusarium spp.*, *Phymatotrichum omnivorum*, *Sclerotium rolfsii* y *Phytophthora parasítica*; todas causando pudriciones en la base del tallo y raíz (Duke y Atchey, 1984; Augstburger *et. al.*, 2000; Gowda, 2000; Escalante, 2001; Amusa, 2005).

Hasta esta fecha, la enfermedad que es considerada de mayor importancia para el cultivo de jamaica es la conocida como pudrición basal negra causada por *Phytophthora parasítica* Dastur, y así lo demuestran trabajos de investigación realizados por Hadad *et. al.*, (1976), en Indonesia. En México, Hernández y Romero (1990) reportan a *P. parasítica*, como el causante de la ‘pata prieta’, provocando una pudrición a la altura del cuello y parte subterránea del tallo, que invade frecuentemente las raíces. La infección avanza hacia la parte superior y produce en ocasiones agrietamientos de la corteza. En el follaje se observa al principio una clorosis que invade todas las hojas ocasionando marchitez, caída prematura de hojas, y en daños severos muerte de planta. La enfermedad se presenta desde que la planta alcanza una altura de 20 cm hasta que está en producción. Escalante (2001) evaluó la variabilidad patogénica del microorganismo en las principales zonas productoras del estado de Guerrero.

En estudios recientes se ha asociado también a *F. oxysporum* con la enfermedad ‘pata prieta’ de la jamaica en el estado de Guerrero (González, 2008). Amusa *et. al.*, (2005) mencionan a este microorganismo como el agente causal de la marchitez vascular de la jamaica en el suroeste de Nigeria. Estos investigadores describen que las plantas afectadas por este hongo mostraron marchitez completa en los brotes, lesiones necróticas sobre el tallo, comenzando desde la base del suelo hacia arriba afectando la mayoría de las ramas.

Menos comunes son los daños causados por nematodos en plantas de jamaica. Sin embargo Hernández *et al.*, (1990) identificaron a *Meloidogyne arenaria* como el causante de agallamientos en raíces de plantas de jamaica en el estado de Guerrero.

En el follaje pueden presentarse manchas ocasionadas por *Phoma sabdariffae*, *Cercospora malvensis* y *Oídium sp.*, principalmente durante el período cálido-húmedo provocando puntos claros rodeados por un halo rojizo conocido como ojo de gallo. Tanto el follaje como los frutos son infectados por la cenicilla *Leveillula taurica* (Duke y Atchey, 1984; Morton, 1987; Augstburger *et al.*, 2000; Amusa, 2005; Hidalgo *et al.*, 2009).

En plantaciones de Guerrero se presenta una enfermedad en follaje descrita por Hernández *et al.*, (2008) que se caracteriza por la presencia de manchas blanquecinas o grisáceas rodeadas de un halo rojizo, que al paso del tiempo aumentan en número y tamaño; en ocasiones cubren completamente la lámina foliar. Asimismo han encontrado como los causantes de este daño a los hongos *Leptosphaerulina americana*, *Corynespora casiicola* y *Glomerella cingulata*, en menor grado se identificaron a los géneros *Cercospora sp.*, y *Phomopsis sp.*

En años recientes, en la zona de mayor producción de jamaica del estado de Guerrero, se encontró una enfermedad de etiología desconocida que se caracteriza por la presencia de manchas en la superficie del cáliz, lo que deteriora la calidad del producto. Se han observado dos tipos de manchas en los cálices, a saber: 1) manchas blancas, abultadas, redondeadas a irregulares, de 1-2 mm de diámetro de aspecto corchoso, y 2) manchas de color negro, ligeramente hundidas, de forma irregular, de aproximadamente 1 a 5 mm de diámetro, conforme la infección avanza evolucionan en tamaño y número e invaden parcialmente la superficie del cáliz. La información referente a este problema es escasa, Alfieri Jr *et al.*, (1984), menciona a

Fusarium sp., causando pudrición en fruto y a *Phomopsis* sp., induciendo muerte regresiva en tallos y manchas en el follaje en especies de *Hibiscus* en Florida, pero no hace una debida descripción de síntomas.

La presencia de esta enfermedad en los cálices deteriora la calidad del producto y consecuentemente el precio. Sin conocer el origen de la enfermedad, este daño ha ido en aumento año con año lo que ha ocasionado pérdidas de consideración. Por tal razón los objetivos del presente trabajo son:

Objetivo general

- Conocer la causa y el daño del manchado de cálices de jamaica en Guerrero.

Objetivos específicos

- Identificar el agente causal del manchado de cálices de jamaica.
- Evaluar la incidencia en campo.
- Evaluar la severidad de la enfermedad en los cálices.

Hipótesis

El manchado de los cálices en el cultivo de la jamaica es consecuencia de la asociación de diferentes organismos.

LITERATURA CITADA

- Alfieri Jr, S.A., Langdon, K.R, Wehlburg, C., Kimbrough, J.W. 1984. Index of Plant Diseases in Florida. Florida Department of Agriculture & Consumer Services. Bulletin 11. 389 pp
- Amusa, N. A., Adegbite, A. A., and Oladapo, M. O. 2005. Vascular wilt of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L., var. *sabdariffa*) in the humid forest region of South-wester Nigeria. Plant Pathology Journal 4(2): 122-125.
- Augstburger, F., Berger, J., Censkowsky, U., Heid, P., Milz, J., and Streit, C. 2000. Organic farming in the tropics and subtropics. Exemplary description of 20 crops. Editorial Naturland e. V. 14 pp.
- Babalola, S. O; Babalola, A. O. and Aworh, O. C. 2001. Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). The Journal of Food Technology in Africa 6:133-134.
- Castillo-Solano, C. 2007. Manual de Producción y Paquete Tecnológico de jamaica. Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Puebla. 52 pp.
- Castro, M. M. 2002. Análisis de la comercialización de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) al mercado de la unión Europea. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Chapingo, División de ciencias económico-administrativas. México. 65 pp.
- Crane, J.C., 1943. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) as a fiber crop. Economic plants of interest to the Americas. USDA. 47pp.

- Cronquist, A., 1981. An integrated system of classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. Columbia University Press. New York. 1262 pp.
- Duke, J.A., and Atchley, A.A., 1984. Proximate analysis. In Christie, B.R. (ed), the handbook of plant science in agriculture. CRC press, Inc., Boca Raton, FL. 389 pp.
- Escalante E. Y., 2001. Variabilidad patogénica de *Phytophthora parasitica* Dastur en Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Revista Mexicana de Fitopatología. 19(1):84-89.
- FAO. 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Dirección electrónica: <http://www.fao.org> Consultado el 12 de Noviembre de 2009.
- Fasoyiro, S. B.; Ashaye, O. A.; Adeola, A. and Samuel, F. O. 2005. Chemical and storability of fruit-flavoured (*Hibiscus sabdariffa*) drinks. World Journal of Agricultural Sciences 1:165-168.
- García-Martínez, E. 1995. Efecto del deterioro de tres tamaños de semilla de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) bajo diferentes periodos de envejecimiento acelerado. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Chapingo, Departamento de fitotecnia. México. 81 pp.
- Gassama-Dia, Y. K.; Sané, D. and Ndoye, M. 2004. Direct genetic transformation of *Hibiscus sabdariffa* L. African Journal of Biotechnology 3:226-228.
- González-Santín, .L. 2008. Etiología de la enfermedad ‘pata prieta’ de la jamaica (*Hibiscus sabadariffa* L.) en Guerrero, México. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Chapingo, Departamento de Parasitología. México. 63 pp.

- Gowda, B., 2000. Economic Botany. Fibres, Rubber, Firewood, Timber and Bamboo. Department of botany, University of Agricultural Sciences Hebbal. Bangalore. 109 pp.
- Hadad, E.A., Hasman, N., and Sitepu, D. 1976. Testing of roselle varieties for resistance to Phytophthora. Pemberitaan-Lembaga penelitian tonaman Industri, Bogar, Indonesia. 22:7-14.
- Hernández, M. J., y Romero C. S., 1990. Identificación del agente causal de “La pata prieta” de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), y prueba de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. Revista Chapingo (67-68):50-54.
- Hernández, J.M.; Sosa, C.M.; Osada, S.K.; Martínez, A.G., y Leyva, S.G.M. 1990. Interacción entre *Phytophthora parasítica* y *Meloidogyne arenaria* en la ‘pata prieta’. Agrociencia 1(2): 123-136
- Hernández, M.J.; Ayala, E.V.; Alanís, M.I. 2008. Caracterización de hongos asociados al síntoma de ‘ojo de gallo’ de follaje de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México. Memorias del XXXV Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad de Fitopatología. Monterrey Nuevo León. Número de resumen: C-45.
- Herrera, A. A; Flores R. S; Chávez S. M. A. and Tortoriello, J. 2004. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. Phytomedicine 11:375–382.

- Hidalgo, V.S., Cifuentes, R.W., Ruano, S.H., y Cano, C.L., 2009. Caracterización de trece genotipos de rosa de jamaica *Hibiscus sabdariffa* en Guatemala. *Agronomía Mesoamericana* 20(1):101-109.
- Howard, A and G.L.C. Howard, 1924. Studies in Indian fibre plants. N° 2. On some new varieties of *Hibiscus cannabinus*, L. and *Hibiscus sabdariffa*, L. Indian Department. *Agricultural Men. Botanic Series* 4: 9-36.
- Morton, J. 1987. Roselle. In: *Fruits of warm climates*. Miami, FL. 281-286 pp.
- Omemu, A. M.; Edema, M. O.; Atayese, A. O. and Obadina, A. O., 2006. A survey of the microflora of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) and the resulting “Zobo” juice. *African Journal of Biotechnology* 5: 254-259.
- Purseglove, J. W., 1974. *Tropical Crops Dicotyledons*. Editorial ELBS [Longman]. pp: 370-373.
- Pushpaveni, G. M.; R. Rama and P. Appa., 1973. Note on pests of mest in Andhra Pradesh. *Jute Bulletin*. 36: 106-111.
- Rendón-Aguilar, B. 1992. Estudio de la variación morfológica y aspectos etnobotánicos en *Hibiscus sabdariffa* L. (*Malvaceae*), en relación a su uso y manejo. Tesis de Maestría. UNAM, Facultad de Ciencias, Biología. México. 223 pp.
- Rojas-Pérez, J. P., 1999. Perspectivas de ampliación del mercado de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) del estado de Guerrero. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Chapingo, División de Ciencias Económico-Administrativas. México. 67 p.

Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIAP/SIACON). 1980-2009.
<http://www.sagarpa.gob.mx/dlg/guerrero/agricultura> (Consultado el 12 de noviembre de 2009).

Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA),
2009. <http://www.siap.sagarpa.gob> (Consultado el 12 de Noviembre de 2009)

Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA),
2010. <http://www.siap.sagarpa.gob> (Consultado el 2 Febrero de 2010)

Terán, Z. y Soto F., 2004. Evaluación de densidades de plantación en el cultivo de jamaica
(*Hibiscus sabdariffa* L.). Cultivos tropicales 25(1): 67-69.

Ucan-Chan. I., 1993. Respuesta a la fertilización en el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*
L.) en el sistema roza-tumba-quema en Cayal, Campeche. Tesis de Ingeniería,
Universidad Autónoma de Chapingo, Departamento de fitotecnia. México. 51p.

Wester, P. J., 1907. Roselle: Its Culture and Uses. Farm. Bull. 307. U. S. Dept. Agr.,
Washington, D.C. 16 pp.

**CAPÍTULO I. ETIOLOGÍA DEL MANCHADO DE CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus
sabdarriffa* L.) EN DOS ZONAS PRODUCTORAS DEL ESTADO DE GUERRERO,
MÉXICO.**

Cinthia Martínez Sánchez, Mc.

Colegio de Postgraduados, 2010

Se determinaron los hongos asociados al manchado en cálices de jamaica en Huamuchitos y Xalpatláhuac, de los municipios de Acapulco y Tecoaapa, en el estado de Guerrero. Se colectaron cálices de 200 plantas con síntomas de manchas en la superficie del cáliz y se obtuvieron 160 aislamientos fungosos pertenecientes a los géneros de *Coniella*, *Phomopsis*, *Corynespora* y *Lasiodiplodia*, los cuales se aislaron 60, 60, 25, 15 muestras, respectivamente. Se realizó una inoculación preliminar en campo con cada uno de los aislamientos y sus combinaciones, se reaislaron: *Coniella musaiaensis* var., *hibisci*, *Phomopsis* sp., *Corynespora cassiicola* y *Lasiodiplodia theobromae*, los cuáles se consideran asociados al manchado de cálices.

Palabras clave: Identificación morfológica, *Coniella musaiaensis* var., *hibisci*, *Phomopsis* sp., *Corynespora cassiicola* y *Lasiodiplodia theobromae*

**ETIOLOGY OF SPOTTED CALYCES OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.) IN TWO
PRODUCTION AREAS IN GUERRERO, MÉXICO.**

Cinthia Martínez Sánchez, Mc.

Colegio de Postgraduados, 2010

We identified the fungi associated with spotted calyces in roselle in Huamuchitos and Xalpatláhuac, Guerrero. Calyces were collected from 200 plants with symptoms of spots on the surface of the calyx and obtained 160 fungal isolates belonging to the genera of *Coniella*, *Phomopsis*, *Corynespora* and *Lasiodiplodia*, which were isolated 60, 60, 25, 15 samples, respectively. Was made a preliminary field inoculation with each of the isolates and their combinations, was reisolated: *Coniella musaiaensis* var. *hibisci*, *Phomopsis* sp. *Corynespora cassiicola* and *Lasiodiplodia theobromae*, which are associated with the spotted calyces.

Additional keywords: Morphological identification, *Coniella musaiaensis* var., *hibisci*, *Phomopsis* sp., *Corynespora cassiicola* y *Lasiodiplodia theobromae*

1.1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es de gran importancia debido a los usos potenciales que tienen los cálices en los alimentos, ya que son fuente de colorante rojo y saborizante natural, y poseen propiedades medicinales (Qi *et al.*, 2005). En México se cultiva para la producción de cálices, siendo el estado de Guerrero el principal productor (Galicia, 2007).

En el estado de Guerrero, los municipios de Acapulco y Tecoaapa están entre los de mayor superficie sembrada de jamaica, variedad criolla; siendo así uno de los cultivos primarios por su alto nivel de ingresos principalmente en verano y otoño, estaciones en las cuales el clima es apto para su producción. Es en esta época cuando los productores de jamaica de Guerrero son mayormente beneficiados en la venta de su producto.

Se han reportado varias enfermedades en el cultivo de jamaica, como pudriciones en tallo, en raíz y manchas foliares (Persad y Fortune, 1989; Hernández y Romero, 1990; Gowda, 2000; Augstburger *et al.*, 2000; Escalante, 2001; Amusa, 2005) estas últimas recientemente estudiadas en el estado de Guerrero por Hernández *et al.*, (2008), que observaron manchas foliares conocidas como ‘ojo de gallo’ o peca y se han asociado a la presencia de *Leptosphaerulina americana*, *Corynespora casiicola* y *Glomerella cingulata*, en menor grado se identificaron a los géneros *Cercospora* sp. y *Phomopsis* sp., asociados a esta enfermedad que se caracteriza por manchas blanquecinas o grisáceas rodeadas de un halo rojizo, que al paso del tiempo aumentan en número y tamaño; en ocasiones cubren completamente la lámina foliar.

En años recientes, en la zona de mayor producción de jamaica del estado de Guerrero, se encontró una enfermedad de etiología desconocida que se caracteriza por la presencia de

manchas en la superficie del cáliz, lo que deteriora la calidad del producto. Se han observado dos tipos de manchas en los cálices: manchas blancas, abultadas, redondeadas a irregulares, de 1-2 mm de diámetro de aspecto corchoso; y manchas de color negro, ligeramente hundidas, de forma irregular, de aproximadamente 1 a 5 mm de diámetro, conforme la infección avanza evolucionan en tamaño y número e invaden parcialmente la superficie del cáliz. La información referente a este problema es escasa, Alfieri Jr *et al.*, (1984), menciona a *Fusarium* sp., causando pudrición en fruto y a *Phomopsis* sp., induciendo muerte regresiva en tallos y manchas en el follaje en especies de *Hibiscus* en Florida, pero no hace una debida descripción de síntomas. Lo cierto es que los productores refieren este tipo de síntomas a gotas de agua que quedan en los cálices con las precipitaciones, que dañan el tejido. Este problema ha ido incrementando año con año causando pérdidas de consideración ya que los cálices es la parte fundamental de la planta de jamaica lo que consecuentemente baja la calidad del producto y los precios. Dada la importancia económica del cultivo en el estado de Guerrero se llevó a cabo el presente trabajo con el objetivo de: Identificar el (los) agente (s) causal (es) de la mancha negra en la superficie de los cálices de jamaica.

1.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

Las muestras de material enfermo utilizadas en este estudio se tomaron de dos sitios ubicados en dos zonas económicas del estado de Guerrero: 1) Huamuchitos municipio de Acapulco, y 2) Xalpatláhuac municipio de Tecoanapa, cuya ubicación se describe en el siguiente cuadro.

Cuadro 1. Ubicación de los sitios de estudio.

Municipio	Comunidad	Predio	Zona Económica	Coordenadas	Altura (m)
Acapulco	Huamuchitos	Punto del aguacate	Acapulco	N 16°53'23.35'' O 99°31'39.59''	179
Tecoanapa	Xalpatláhuac	El puente	Costa chica	N 17°01'18.28'' O 99°19'48.22''	750

Toma de muestras de material enfermo

En cinco fechas comprendidas entre los meses de octubre a diciembre del 2008, con base en un muestreo dirigido, se tomaron muestras de cálices con las características de la enfermedad antes descrita, en las dos zonas de muestro. Éstas se colocaron en bolsas de papel debidamente etiquetadas y se trasladaron al laboratorio de fitopatología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo ubicado en Texcoco, Estado de México, para su análisis.

Identificación de los agentes causales

Para determinar el agente causal de las manchas negras y blancas en los cálices de jamaica, se procedió de la siguiente manera:

Cámara húmeda. En laboratorio se cortaron trozos de cálices de aproximadamente 0.5 cm con las manchas características; los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1.0% de 2 a 3 min y se enjuagaron con agua destilada estéril dos veces. Posteriormente se colocaron en cámara húmeda en condiciones de luz-oscuridad natural hasta el desarrollo de estructuras. Siete días después y una vez que se desarrollaron colonias de microorganismos, se observaron las características de las mismas y se hicieron preparaciones permanentes con una gota de glicerol al 50% (Apéndice 1), para su observación en microscopio estereoscópico y compuesto.

Siembra en medios de cultivo. El material colectado se lavó con agua corriente y se tomaron 150 fragmentos de 0.5 cm de tejido de cáliz con lesiones. Estos fragmentos se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1.0% de 2 a 3 min, y se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril; inmediatamente después, se secaron cuidadosamente utilizando papel estéril, y se transfirieron con aguja de disección desinfectada a cajas petri con medios de cultivo PDA (Papa+Dextrosa+Agar) (Apéndice 2), PCA (Papa+Carrot+Agar) (Apéndice 3) y jugo de verduras (V8-Agar) (Apéndice 4), colocándose 5 fragmentos por cada caja de cultivo; misma que se incubaron bajo luz blanca continua a temperatura de ± 24 °C, hasta el desarrollo de los organismos.

Purificación e identificación. Los aislamientos se clasificaron por color de la colonia y tipo de micelio. Posteriormente se realizaron cultivos monóspóricos utilizando la técnica de dilución de esporas en agua destilada estéril y siembra en medio de cultivo Agua-Agar. Una vez germinados los conidios se transfirieron a medio de cultivo PDA y PCA. Desarrollados los microorganismos, se realizaron preparaciones permanentes de cada uno de los aislamientos para su identificación con base en las características morfológicas y la medición de cada una de las estructuras, con el

apoyo de las claves de Barnett y Hunter (2006) para su identificación a nivel de género, y las de Ellis (1971), Sutton (1980) y Burgess *et al.*, (2006) para su identificación a especie.

Prueba de patogenicidad e identificación de reaislamientos

Material vegetal. Del material colectado en campo se identificaron cuatro géneros de hongos.

Las pruebas de patogenicidad se iniciaron el 30 de noviembre de 2009 en las instalaciones del Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario (CBTA), ubicado en Tecoaapa, Guerrero. En una parcela experimental cultivada con jamaica criolla de Guerrero, se probaron 15 tratamientos más el testigo con y sin herida distribuidos al azar, los cuales están registrados en el cuadro 2. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, el diseño experimental utilizado fue un completamente al azar, en donde la única variable evaluada fue: desarrollo de la lesión. Las unidades experimentales fueron los cálices de jamaica inoculados, las heridas se hicieron con una aguja entomológica esterilizada. Previo a la inoculación, los cálices seleccionados se desinfectaron con un algodón con cloro al 1% y se cubrieron con bolsitas de tul.

Método de inoculación y concentración del inóculo. En cada unidad experimental (cáliz), se asperjó una solución de cada uno de los aislamientos obtenidos (*Coniella*, *Phomopsis*, *Lasiodiplodia* y *Corynespora*), con las siguientes concentraciones de: 4.25×10^3 esporas/ml para aislamientos de *Coniella*; 3.42×10^3 esporas/ml para aislamientos de *Phomopsis*; 6.5×10^4 esporas/ml. para aislamientos de *Lasiodiplodia* y finalmente 1×10^5 esporas/ml para aislamientos de *Corynespora*. El testigo consistió en la aspersion de agua destilada estéril. Este método de inoculación se utilizó para cada cepa en forma individual y sus respectivas combinaciones.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados en las pruebas de patogenicidad en Tecoaapa, Guerrero el 30 de Noviembre de 2009.

No.	Clave - Tratamiento	Tratamiento	# Plantas por tratamiento	Cáliz por planta
1	A	<i>Coniella</i>	2	5
2	B	<i>Corynespora</i>	2	5
3	C	<i>Lasiodiplodia</i>	2	5
4	D	<i>Phomopsis</i>	2	5
5	AB	<i>Col-Cor</i>	2	5
6	AC	<i>Col-Las</i>	2	5
7	AD	<i>Col-Phomo</i>	2	5
8	BC	<i>Cor-Las</i>	2	5
9	BD	<i>Cor-Phomo</i>	2	5
10	CD	<i>Las-Phomo</i>	2	5
11	ABC	<i>Col-Cor-Las</i>	2	5
12	ABD	<i>Col-Cor-Phomo</i>	2	5
13	ACD	<i>Col-Las-Phomo</i>	2	5
14	BCD	<i>Cor-Las-Phomo</i>	2	5
15	ABCD	<i>Col-Cor-Las- Phomo</i>	2	5
16	Blanco	Testigo	2	5

Simbología: Col=Coniella; Cor=Corynespora; Phomo=Phomopsis; Las=Lasiodiplodia.

Se realizó un análisis de varianza mediante el procedimiento **glm** (modelo lineal general) del software SAS versión 9, y comparación de medias mediante Tukey con una confiabilidad del 95% (Apéndice 5).

Reaislamiento e identificación del patógeno. De cálices inoculados artificialmente en donde se desarrollaron síntomas similares a los observados en campo, se cortaron fragmentos de 0.5 cm, utilizando la técnica anteriormente descrita que consiste en lavar los fragmentos con dos cambios de agua destilada estéril, se secaron con papel estéril y se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo PDA, PCA y jugo de verduras V8-Agar. Las cajas se incubaron a luz blanca continua a $\pm 24^{\circ}\text{C}$.

Una vez desarrollados los microorganismos en el medio de cultivo se realizaron preparaciones en portaobjetos y se hicieron observaciones en microscopio estereoscópico y compuesto para su plena identificación.

1.3 RESULTADOS

Identificación de los agentes causales

En el muestreo en campo se observaron dos tipos de lesiones en la superficie del cáliz de jamaica: lesiones blancas, abultadas, redondeadas a irregulares, de 1-2 mm de diámetro (Figura 1A y B) y lesiones de color negro, ligeramente hundidas, de forma irregular, de aproximadamente 1 a 5 mm de diámetro (Figura 1C y D), estas lesiones inician como mancha pequeñas que al paso del tiempo coalescen e invaden parcialmente la superficie del cáliz. Ocasionalmente, cuando los cálices tienen la madurez necesaria para ser cosechados se observó que estas lesiones pueden cubrir hasta el 50% de la superficie.

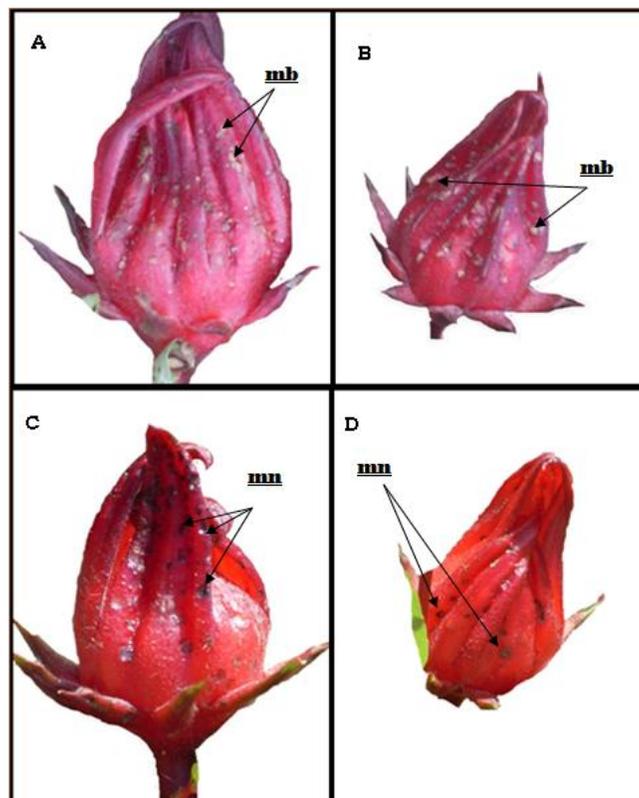


Figura 1. Síntomas de manchado en cálices de jamaica. A y B, **mb**= manchas blancas en la superficie del cáliz; C y D, **mn**= manchas negras de diferentes tamaños en la superficie del cáliz.

De los tejidos cultivados en cámara húmeda y medio de cultivo, solo en aquellos con manchas negras se observó desarrollo de microorganismos.

En cámara húmeda los fragmentos de material enfermo, a los 4 días mostraron crecimiento de micelio de colores que iban desde el blanco hasta el gris.

En algunos casos en fragmentos que permanecieron bajo estas condiciones después de 15 días, se observó desarrollo de cuerpos fructíferos. Estos consistieron en picnidios arreglados en forma circular, muy pequeños, de color negro. En los picnidios se encontraron conidios de una célula, de forma ovoide a casi circulares, los cuales presentan una coloración marrón, características preliminares que indicaron la presencia del género *Coniella*, según las claves de Barnett y Hunter, (2006).

Las colonias desarrolladas a partir de los 150 fragmentos de tejido de cálices con lesiones de color negro (Figura 2A) que se sembraron en los diferentes medios de cultivo, se clasificaron en cuatro grupos dependiendo de su forma y tipo de micelio: grupo 1 (39.39% de los aislamientos), crecimiento del micelio raquíutico, en anillos y color blanco; a los 7 días estas colonias formaron conidiómatas picnidiales de color negro, pequeños y redondeados cubriendo la superficie de la caja petri que al ser aplastados liberaron conidios unicelulares, elípticos, color marrón claro que de acuerdo a las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (2006) y Sutton (1980), los aislamientos pertenecen al género *Coniella* (Figura 2B). Grupo 2 (39.39%), crecimiento del micelio semi-algodonoso de color blanco, liso, con desarrollo de manchas negras en la base del medio de cultivo, que posteriormente se convirtieron en conidiómatas estromáticos grandes, de color negro, formaron conidios de dos tipos, los primeros fueron unicelulares, hialinos, cilíndricos, rectos con extremos redondeados y los segundos alargados, filiformes, curvos y hialinos, estas

características coinciden con las descripciones que proporciona Barnett y Hunter (2006), para el género *Phomopsis* (Figura 2C). Grupo 3 (15.15%), micelio algodonoso de color blanco en la circunferencia y marrón claro en el centro, formando conidios alargados y cortos, cilíndricos; los alargados son ligeramente curvados, ambos multiseptados de color marrón claro, inicialmente los conidios se formaron en conidióforos largos y dispersos en el micelio, que de acuerdo a la clave taxonómica de Sutton (1980) estas características coinciden con el género *Corynespora* (Figura 2D). Grupo 4 (6.67%) micelio de color inicialmente blanco, el cual al paso del tiempo cambió a gris claro y posteriormente a gris oscuro, algodonoso, de crecimiento excesivo; a los 32 días desarrolló grupos de conidiómatas estromáticas de color gris, con apariencia aterciopelada, redondeados que al ser aplastados liberaron conidios maduros bicelulares de color marrón oscuro e inmaduros unicelulares, hialinos, ovalados cuyas características coinciden con las que proporciona Sutton (1980) para el género *Lasiodiplodia* (Figura 2E).

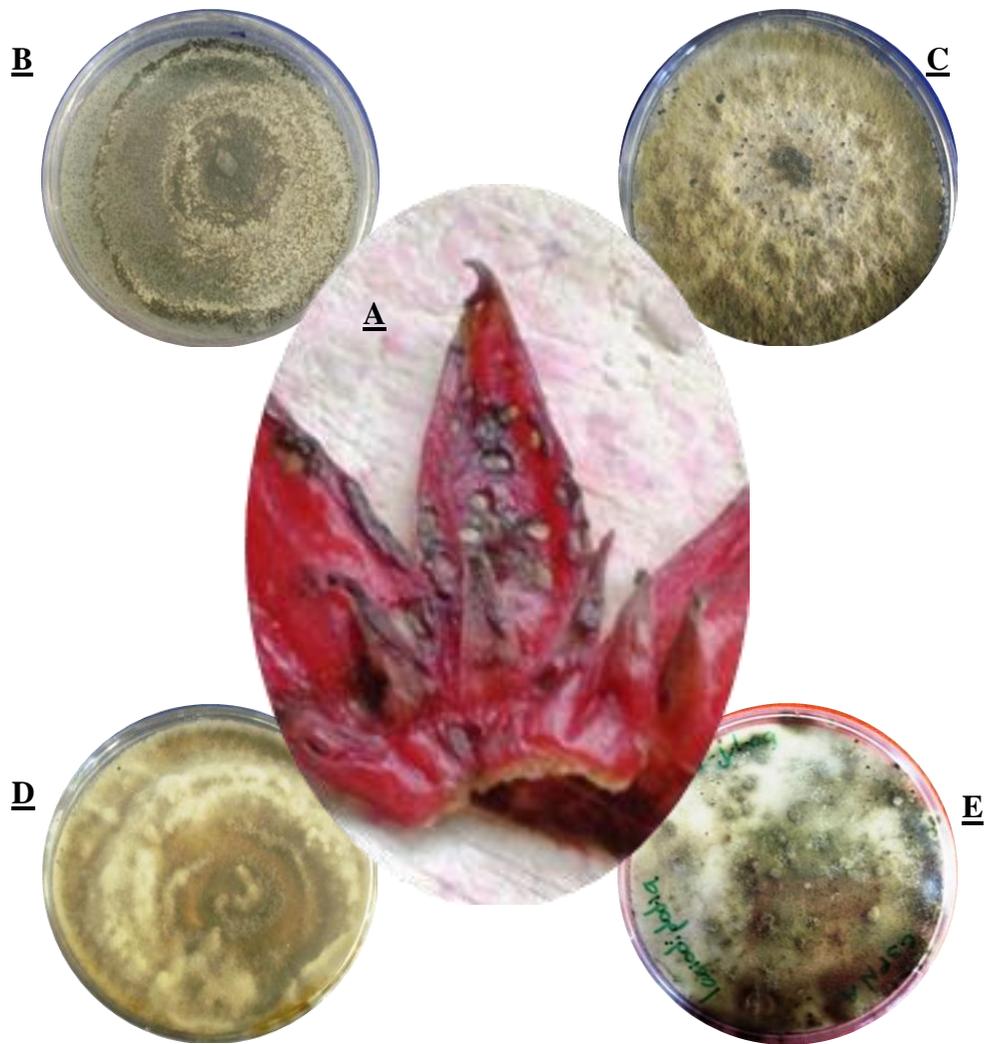


Figura 2. Hongos asociados en cáliz de jamaica, aislados de cáliz con síntomas de manchado. A) Cáliz de jamaica con síntoma de manchas negras, B) *Coniella* sp., C) *Phomopsis* sp., D) *Corynespora* sp., E) *Lasiodiplodia* sp.

Pruebas de patogenicidad e identificación de reaislamientos

Después de tres días de inoculación, los síntomas iniciales de manchado de cáliz fueron observados en los tratamientos 6 (AC), 13 (ACD) y 14 (BCD). La parte afectada gradualmente se tornó negra y fue extendiéndose a lo largo y ancho del punto de inoculación. El área infectada fue medida después de siete días en todos los tratamientos inoculados. El tratamiento 6 presentó mayor desarrollo de lesión, mostrando manchas irregulares de $\pm 31.0 \text{ mm}^2$, seguido por los

tratamientos 1 y 13 con tamaños de ± 29.0 y 23.0 mm^2 , respectivamente. Los demás tratamientos presentaron manchas menor a 10 mm^2 (cuadro 3). En los cálices testigo no se produjeron signos de lesiones.



Figura 3. Resultados de las pruebas de patogenicidad en Tecoaapa, Guerrero el 30 de Noviembre de 2009.

El análisis de varianza mediante el proceso **glm** (Apéndice 6 y 7) indicó que hubo diferencia entre tratamientos. El desarrollo de lesión que presentó el tratamiento 6, fue significativamente mayor comparado con el 1 y el 13 que fueron iguales, el resto de los tratamientos no presentaron diferencias significativas.

En 14 de los 16 tratamientos donde se practicó una herida antes de la inoculación, se presentaron síntomas, con excepción del tratamiento 12 (ABD) y el testigo. En cambio en los tratamientos donde no se practicó herida antes de la inoculación, solo el tratamiento 2 y el tratamiento 9 se indujeron síntomas en una sola repetición (Cuadro 4).

Cuadro 3. Lesiones desarrolladas en cálices de jamaica inoculados con los diferentes tratamientos.

No.	Tratamiento	Tamaño de la lesión (mm ²)
6	<i>Coniella+Lasiodiplodia</i>	31.2 a
1	<i>Coniella</i>	29.2b
13	<i>Coniella+Lasiodiplodia+Phomopsis</i>	23.2b
3	<i>Lasiodiplodia</i>	8.6c
2	<i>Corynespora</i>	8.4c
14	<i>Corynespora+Lasiodiplodia+Phomopsis</i>	7c
7	<i>Coniella+Phomopsis</i>	6c
8	<i>Corynespora+Lasiodiplodia</i>	4.6c
9	<i>Corynespora+Phomopsis</i>	4.4c
10	<i>Lasiodiplodia+PhomopsisCD</i>	4.4c
15	<i>Coniella+Corynespora+Lasiodiplodia+Phomopsis</i>	4c
4	<i>Phomopsis</i>	3.6c
5	<i>Coniella+Corynespora</i>	3.2c
11	<i>Coniella+Corynespora+Lasiodiplodia</i>	2.4c
12	<i>Coniella+Corynespora+Phomopsis</i>	0
16	Testigo	0

Cifras con diferentes letras dentro de una misma columna, son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Reaislamiento e identificación del patógeno. De los cálices que mostraron síntomas en las pruebas de patogenicidad se reislaron, en la mayoría de los casos los mismo organismo que fueron inoculados. De esta forma con base en los análisis de laboratorio y la ayuda de las claves ya citadas, se identificaron los siguientes organismos.

Cuadro 4. Resultados de las pruebas de patogenicidad y organismos reaislados de los cálices de jamaica inoculados en guerrero el 30 de Noviembre de 2009.

No.	Clave	Tratamiento	Con Herida		Sin Herida		Reaislamiento	Patógeno Reaislado
			No.	%	No.	%		
1	A	<i>Coniella</i> sp.	3	60	0	0	+	<i>Coniella</i> sp.
2	B	<i>Corynespora</i> sp.	2	40	1	20	+	<i>Corynespora</i> sp.
3	C	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	5	100	0	0	+	<i>Lasiodiplodia</i> sp.
4	D	<i>Phomopsis</i> sp.	2	40	0	0	+	<i>Phomopsis</i> sp.
5	AB	Col+Cory	3	60	0	0	+	<i>Coniella</i> sp. y <i>Corynespora</i> sp.
6	AC	Col+Las	3	60	0	0	+	<i>Coniella</i> sp. y <i>Lasiodiplodia</i> sp.
7	AD	Col-Phomo	3	60	0	0	+	<i>Phomopsis</i> sp.
8	BC	Cory+Las	2	40	0	0	+	<i>Corynespora</i> sp. y <i>Lasiodiplodia</i> sp.
9	BD	Cory+Phomo	4	80	1	20	+	<i>Phomopsis</i> sp.
10	CD	Las+Phomo	3	60	0	0	+	<i>Phomopsis</i> sp.
11	ABC	Col+Cory+Las	3	60	0	0	+	<i>Lasiodiplodia</i> sp.
12	ABD	Col+Cory+Phomo	0	0	0	0	-	-
13	ACD	Col+Las+Phomo	5	100	0	0	+	<i>Coniella</i> sp., y <i>Lasiodiplodia</i> sp.
14	BCD	Cory+Las+Phomo	3	60	0	0	+	<i>Corynespora</i> sp.
15	ABCD	Col+Cory+Las+Phomo	3	60	0	0	+	<i>Corynespora</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp., y <i>Lasiodiplodia</i> sp.
16	Test	Testigo	0	0	0	0	-	-

Simbología: Col = *Coniella*; Cory = *Corynespora*; Phomo = *Phomopsis*; y Las = *Lasiodiplodia*.

Coniella musaiaensis Sutton., var. *hibisci*. Las características observadas en este organismo fueron: micelio inmerso, hialino, ramificado, septado. Conidiómata picnidial, individual, globoso, marrón claro (color café) a oscuro, inmerso a semi-inmerso, unilocular de 160~200 x 130~150 μm (Figura 4A, B), compuesto de una delgada pared, marrón claro de textura angular excepto en la base donde está situada la región conidiogénica formada de pequeñas células hialinas. Conidios oliváceos a marrón claro, aseptados, de base truncada, ápice obtuso casi apiculado, con pared delgada de 11.75 x 3.55 μm (Figura 4C, D).

Estas características corresponden por las descritas por Sutton (1980), Persad y Fortune (1989) y Abbas *et al.* (2004) para *C. musaiaensis* Sutton, var. *hibisci*

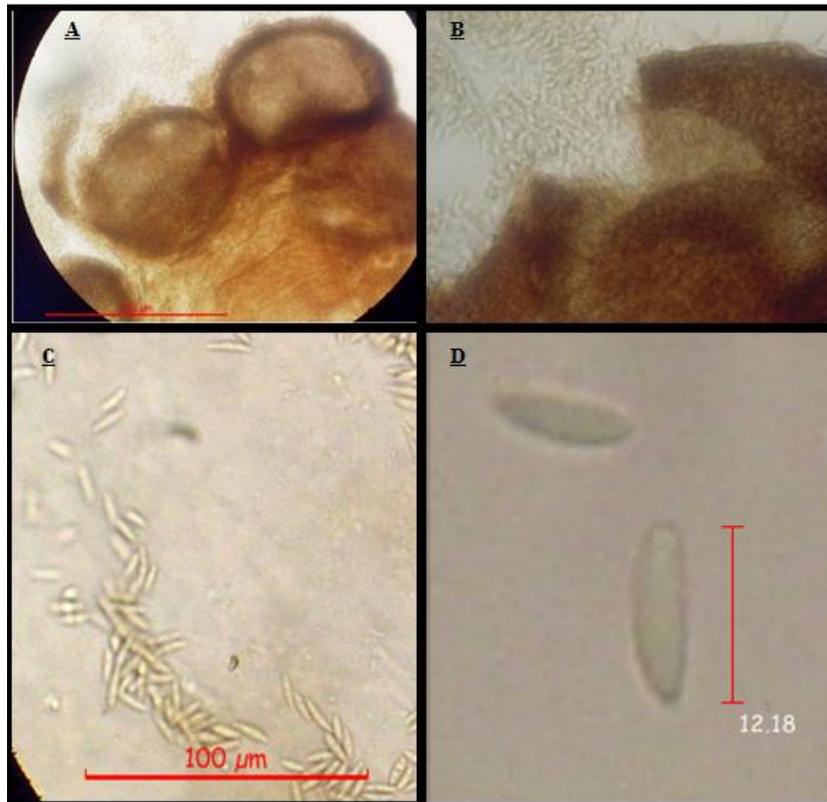


Figura 4. *Coniella musaiaensis* Sutton var. *hibisci*. A y B, cortes transversales de picnidios; C y D, conidios. A= 200 μm , C=100 μm , D=12.18 μm .

Phomopsis sp. Micelio inicialmente hialino (Figura 5C), conforme se acerca a la producción de esporas β se vuelve marrón claro (Figura 5D), conidiómata estromático, inmerso, marrón a oscuro, de paredes gruesas, aplanados a globosos, que varían en tamaño, a menudo de 100~500 μm de diámetro, con o sin pico, cuando está presente, éste puede medir entre 65~67 μm (Figura 5E Y F). Conidióforos simples. Fiálides rara vez observadas, hialinas, simples o ramificadas, se derivan de la capa mas interna de las células que recubren la cavidad. Los conidios α son hialinos, aseptados, subcilíndricos, con tamaño promedio de 6.57 x 2.48 μm (Figura 5A). Conidios β filiformes, curvos, hialinos, de 10~32 x 0.2~0.5 μm (Figura 5B). Estas características coinciden con la que proporcionan Barnett y Hunter (2006) y Sutton (1980) para el género *Phomopsis* sp.

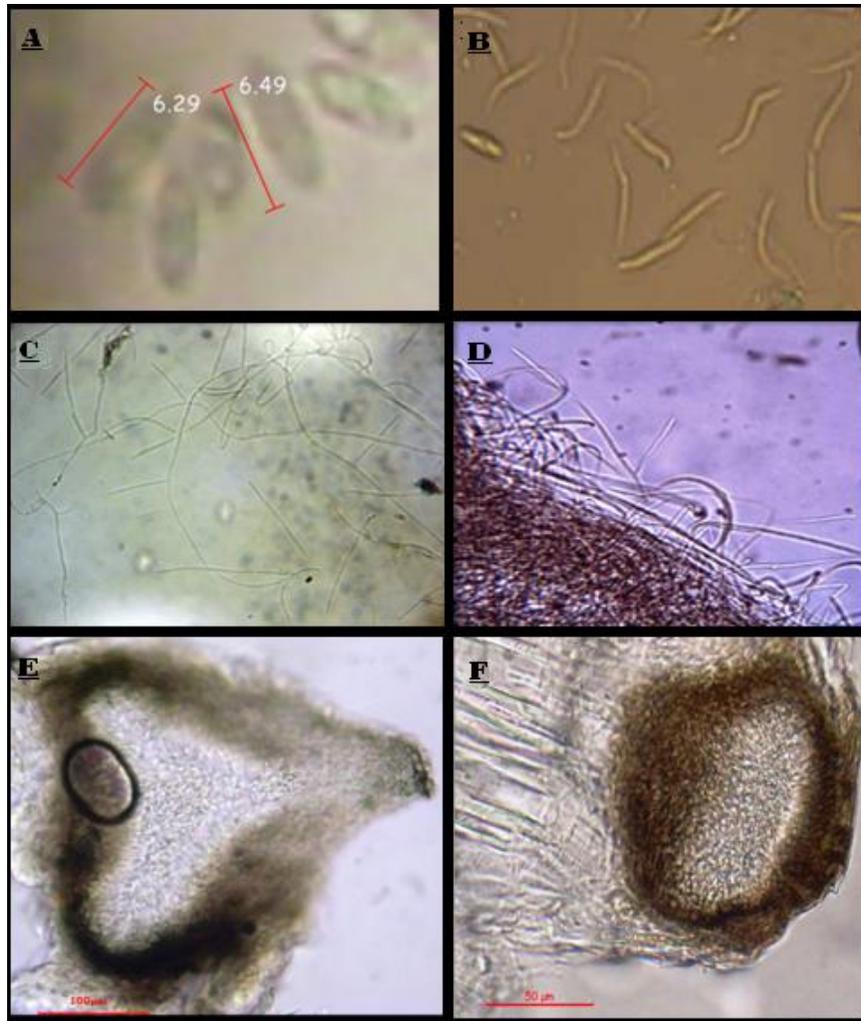


Figura 5. *Phomopsis* sp. A, conidios α ; B, conidios β ; C y D, micelio hialino; E y F, cortes transversales de conidiómatas estromáticos con cavidad picnidial de diferentes formas. A= 6.29 y 6.49 μm , E=100 μm , F=50 μm .

Corynespora cassiicola (Berk & Curt) Wei. Micelio color marrón claro, septado (Figura 6C). Conidióforos erguidos, en su mayoría simples, poco septados, color marrón oscuro (Figura 6A, B), con proliferaciones que emergen de forma variable, cilíndricos cuya longitud es de 10 – 100 μm , de color más claro hacia el ápice. Los conidios generalmente son solitarios, obclavados a cilíndricos, rectos o ligeramente curvados, algunos conidios tienden a adelgazarse hacia el ápice, marrón pálido, lisos, de cuatro a más pseudoseptos, miden 36.26~156.42 x 4.20~11.44 μm ,

(Figura 6D, E). Las características observadas en este organismo coinciden con las que proporciona Wei (1950), para *Corynespora cassicola* (Berk. & Curt.) quien también menciona una amplia diversidad en el tamaño de los conidios. Descripciones posteriores realizadas por Ellis (1971), Ellis y Holliday (1972,) Kwon *et al.*, (2001) y Kwon *et al.*, (2005) para esta especie, coinciden con las características aquí descritas.

Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griff. & Maubl. Micelio inmerso o superficial, ramificado, septado, color marrón oscuro (Figura 7C). Conidiómata estromático picnidial, inmerso o superficial, individual o en agregados, globoso, carbonoso, marrón oscuro, uni o multilocular de 125.10~253.1 x 117.2~138.70 μm (Figura 7B y C), pared marrón oscuro, gruesa de textura rugosa (50.71~60.24 μm) (Figura 7B), además los picnidios presentaron un orificio prominente denominado ostiolo. Conidios hialinos cuando son jóvenes (inmaduros) (Figura 7D), más tarde forma un septo en la parte media, marrón oscuro, de pared gruesa, elipsoidal, con base truncada, de 18.75~25.53 x 9.72~13.89 μm (Figura 7A). Parafises hialinas, cilíndricas y septadas (Figura 6D).

Las características de este aislamiento coincidieron con las de *L. theobromae* reportadas por Cruz *et al.* (2001), Burgess *et al.* (2006) y Vásquez *et al.* (2009).

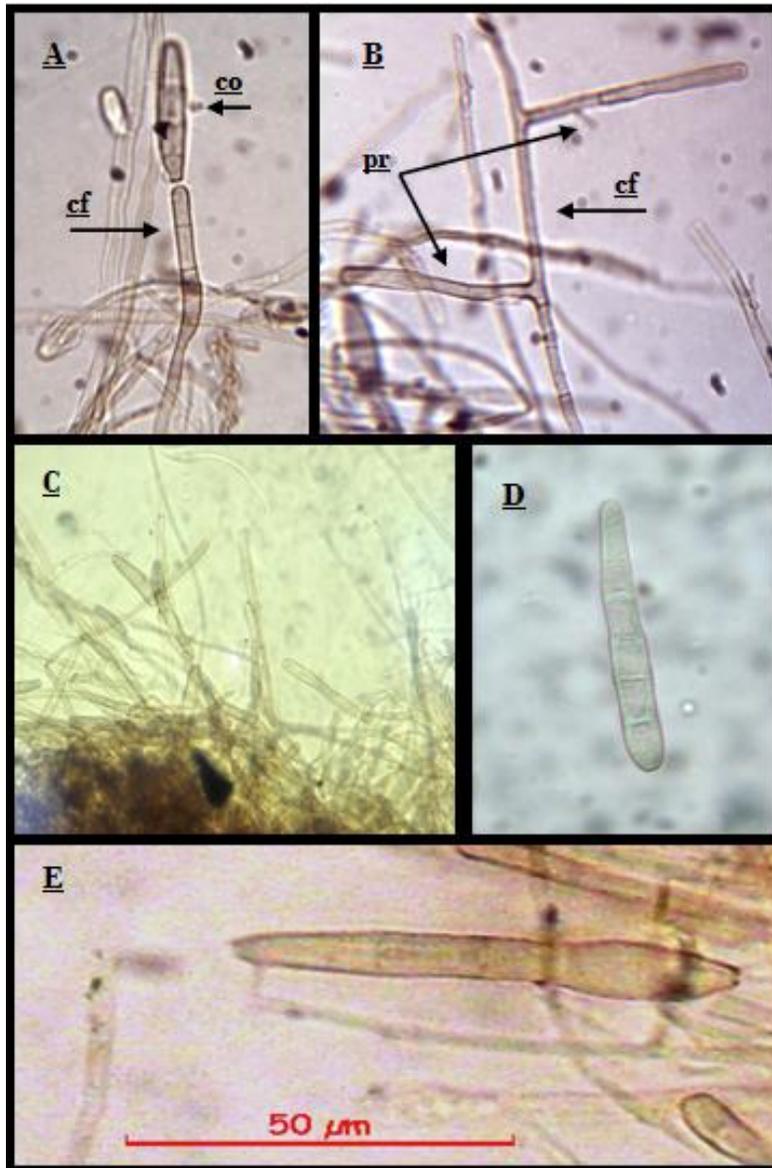


Figura 6. *Corynespora cassiicola*. A, conidio (**co**) pegado al conidióforo (**cf**); B, conidióforo con proliferaciones (**pr**), C, micelio; D, conidio recto y alargado; E, conidio grueso en la base y alargado hacia el ápice. E=50 µm.

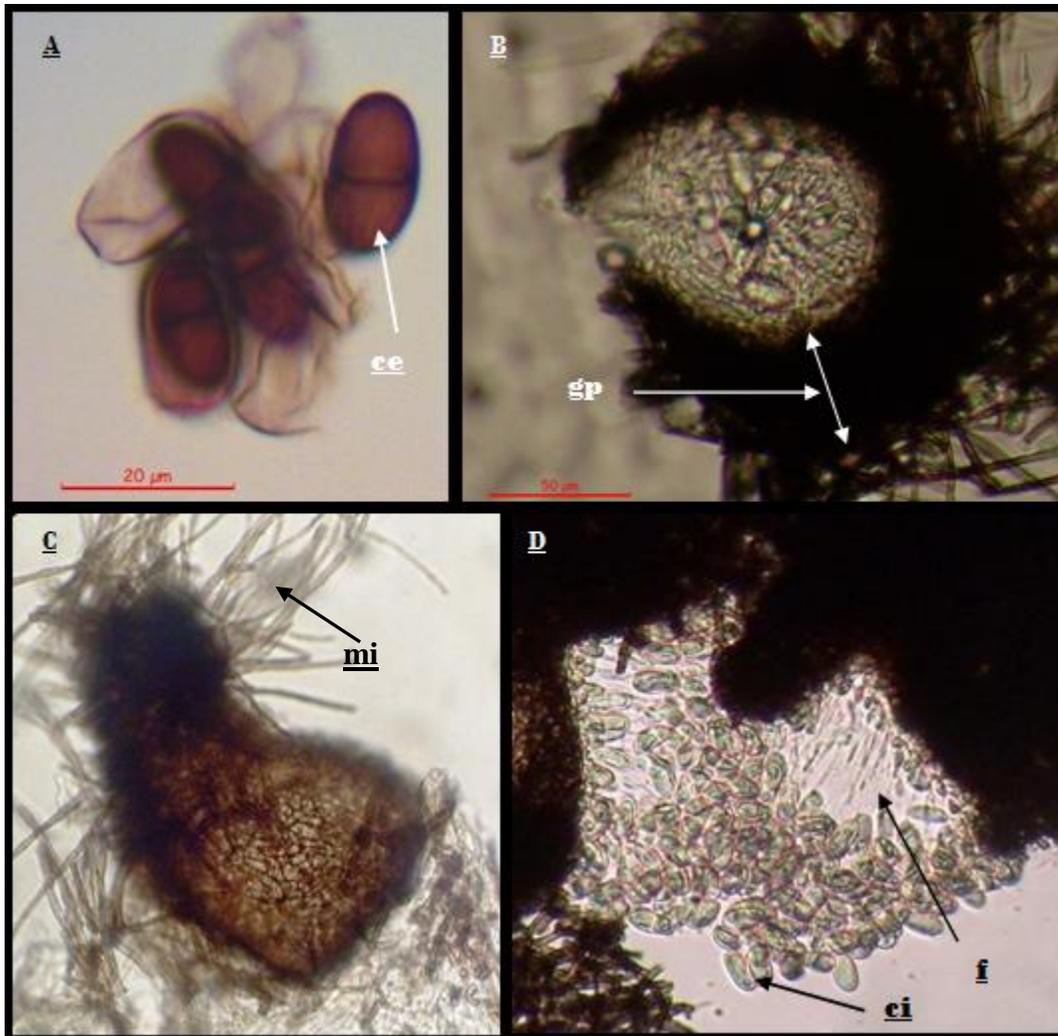


Figura 7. *Lasiodiplodia theobromae*. A, Conidios maduros, uniseptados, y con estrías (**ce**); B, grosor de la estructura estromática (**gp**); C, estructura estromática picnidial con micelio color marrón; D, conidios inmaduros (**ci**). A=20 µm; B=50 µm.

1.4 DISCUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos se observó que los cuatro organismos aislados, inoculados individualmente indujeron la producción de manchas en los cálices de jamaica. Sin embargo los síntomas fueron más evidentes cuando la inoculación se hizo en forma combinada entre estos organismos.

De esta forma pudo observarse que *Coniella musaiaensis* var. *hibisci* (cuadro 3) indujo la aparición de manchas con un promedio de $\pm 29.2 \text{ mm}^2$, de forma circular a ovoide, color negro. Este género ha sido reportado en Nigeria y Bengal por Khatuna & Maiti, (1978) y Abbas *et al.*, (2004) en hojas de *Hibiscus cannabinus*, mientras que en Trinidad y Tobago, Persad y Fortune (1989) lo describen en *Hibiscus sabdariffa* causando manchas foliares de similar apariencia con el síntoma estudiado. En la región del Caribe, McClintock y El Tahir (2004), mencionan a este hongo como el causante de lesiones irregulares, color marrón claro que aparecen en hojas y cálices de jamaica, estas incrementan de tamaño, cubriendo la superficie de la hoja y cáliz resultando en una necrosis de los tejidos Sin embargo no se encontró ninguna referencia de esta especie que se relacione con el machado de cálices en México.

Por otra parte *Lasiodiplodia theobromae*, (cuadro 3) indujo manchas con un promedio de $\pm 8.6 \text{ mm}^2$, de forma irregular, hundidas y de color negro. Esta especie es característica de frutos en postcosecha y ramas de árboles de eucalipto, mango (*Mangifera indica* L.) y aguacate (*Persea americana* Mill) en el continente Americano. En el estado de Guerrero, esta especie está reportada por Vásquez *et al.*, (2009) como la causante de la muerte descendente de árboles en mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore y Stearn), provocando ruptura de epidermis; colapso y necrosis de células corticales, en floema, en laticíferos, en fibras externas del floema y

cambium vascular. No existen hasta el momento registros sobre *Lasiodiplodia theobromae* infectando especies de *Hibiscus*.

Corynespora cassiicola indujo manchas promedio de $\pm 8.4 \text{ mm}^2$, de forma circular, color negro. Este síntoma provocado por este hongo también lo reportó Silva *et al.*, (1997) en Brasil, en los cultivos de papaya (*Carica papaya* L.), ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) causando manchas foliares y lesiones negras en tallo. Sánchez (1979) reporta a esta especie en hojas de calabaza en Sinaloa, causando manchas negras que coalescen destruyendo toda la superficie foliar. Los síntomas aislados en cálices de jamaica son similares a los descritos por Cutrim y Silva (2003) en Brasil, quienes indujeron en hojas de jamaica un aislamiento *C. cassiicola* obtenido en tomate, causando pequeñas manchas redondeadas, blanquecinas o grisáceas rodeadas de un halo rojizo, que al paso del tiempo aumentaron en número y tamaño. Hernández *et al.* (2008), aislaron a este patógeno a partir de manchas similares en hojas de jamaica, procedentes del estado de Guerrero. No hay referencias de la presencia de esta especie en cálices de jamaica. Es probable que de las hojas infectadas, los conidios invadan los cálices ocasionando el síntoma de manchado.

Las manchas inducidas por *Phomopsis* sp., fueron de menor tamaño (promedio de $\pm 3.6 \text{ mm}^2$), circulares, de color gris oscuro. Este síntoma coincide con los descritos en hojas y fruto de la vid en Argentina por Cragolini *et al.*, (2009), quienes mencionan que a modo de sobrevivencia el hongo pasa de las hojas a los frutos maduros. En el continente Americano, Alfieri *et al.*, (1984) mencionan a este hongo como causante de muerte regresiva en tallo y manchas en el follaje de *Hibiscus cannabinus*, *Hibiscus esculentus*, *Hibiscus rosa-sinensis* e *Hibiscus tiliaceus*, sin llegar a la identificación de la especie del hongo. En México, Maldonado *et al.*, (2007) mencionan al ‘tizón de tallo y vainas’ causado por *Phomopsis* sp. en plantas de soja, ocasionando manchas

negras, redondeadas y pequeñas, similares a las encontradas en los cálices de jamaica. Hernández *et al.*, (2008) también encontraron a este hongo asociado a manchas foliares en plantas de jamaica en el estado de Guerrero.

La combinación *C. musaiaensis* + *L. theobromae* produjo manchas de mayor tamaño (± 31.2 mm²). A diferencia de las lesiones obtenidas por cada organismo inoculado individualmente, las manchas de esta combinación son irregulares, hundidas, de color negro; al realizar el reaislamiento se obtuvieron ambos organismos lo que significa que puede darse un sinergismo, lo que probablemente ocasione una mayor virulencia. Pongpanich, (1998), reporta a estas especies causando daños en diferentes partes de las hojas de plántulas de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*), *Coniella* ocasionando un tizón en la parte media de la hoja y *Lasiodiplodia*, un tizón en la parte apical de la hoja, aun cuando se encontraron en el mismo órgano, al reaislarlos no se encontraron juntos.

La combinación *C. musaiaensis* + *L. theobromae* + *Phomopsis* produjo manchas de un tamaño menor que el desarrollado por la combinación anterior (± 23.2 mm²), estas manchas fueron similares a las descritas anteriormente solo variando en el tamaño. Sin embargo en el reaislamiento solo se obtuvo a *C. musaiaensis* y *L. theobromae*. No obstante *Phomopsis* está reportado en hojas de jamaica por Hernández *et al.*, (2008), pero su infección está catalogada de menor grado. Duran y Mora (1988), aislaron e inocularon a *Lasiodiplodia* y *Phomopsis* en frutos de papaya, aunque no asociados; estos mismos autores aclaran que la lesión por *Phomopsis* sp., es lenta cuando se encuentra en asociación con otro patógenos, siendo el otro patógeno con el que se inocule, el que se desarrolla primero y deja a *Phomopsis* con pocas posibilidades de manifestarse. Por otro lado Pongpanich, (1998), aisló *Phomopsis* sp y *L. theobromae* de la misma lesión en plántulas de eucalipto con tizón en la punta de las hojas y de pudrición en la corteza de

los árboles. Mohanan *et al.*, (2005) encontraron a *Coniella* y *Phomopsis* sp., causando manchas foliares en *Eucalyptus citriodora*. Sin embargo, estas fueron de menor tamaño que aquellas manchas de donde se aislaron a estos mismos organismos pero en forma individual.

Las combinaciones restantes indujeron manchas promedio menores de 10 mm², estas fueron circulares o irregulares. En las combinaciones donde aparece *C. cassicola* y *Phomopsis* sp., son las que tienen menor desarrollo de lesión por lo que posiblemente no tienen el mismo efecto sinérgico que *C. musaiaensis* y *L. theobromae*.

C. musaiaensis, *C. cassicola*, *L. theobromae* y *Phomopsis* sp., combinadas e inoculadas en un tratamiento, desarrollaron una lesión promedio ± 4 mm². Probablemente, en este tipo de combinaciones no exista sinergia, y no se perciba de manera natural en el campo.

1.5 CONCLUSIÓN

Los organismos asociados al manchado de cálices en Huamuchitos municipio de Acapulco y Xalpatláhuac municipio de Tecoaapa, Guerrero, son: *Coniella musaiaensis* Sutton var. *hibisci*, *Corynespora cassiicola* Berk & Curt., *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl., y *Phomopsis* sp. Dearn.

Estos hongos inoculados individualmente, causaron lesiones similares a las observadas en campo.

Se observó que existe una interacción entre algunos de estos microorganismos para que la enfermedad se manifieste con mayor intensidad.

1.6 LITERATURA CITADA

- Abbas, S. Q.; Sutton, B. C.; Ghaffar, A., and Abbas, A. 2004. *Cytopleastrum* Gen. Nov., an addiccion to Coelomycetes from Pakistan. *Pakistan Journal Botanic*, 36(2): 457-461.
- Alfieri Jr, S.A., Langdon, K.R, Wehlburg, C., Kimbrough, J.W. 1984. Index of Plant Diseases in Florida. Florida Department of Agriculture & Consumer Services. Bulletin 11. 389 p.
- Amusa, N. A., Adegbite, A. A., and Oladapo, M. O. 2005. Vascular wilt of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L., var. *sabdariffa*) in the humid forest region of South-wester Nigeria. *Plant Pathology Journal* 4(2): 122-125.
- Augstburger, F., Berger, J., Censkowsky, U., Heid, P., Milz, J., and Streit, C. 2000. Organic farming in the tropics and subtropics. Exemplary description of 20 crops. Editorial *Naturland* e. V. 14 p.
- Ely-Baly F. 2003. Etiología y Epidemiología de los principales hongos patógenos foliares de *Eucalyptus urophylla* Blake en Venezuela. *Revista Forestal. Venezuela*. 47(2):126
- Barnett, L.H., and Hunter, B.B. 2006. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Fourth Edition. Am. Phytopathology. Soc. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Burgess, T. I., P. A. Barber, S. Mohali, G. Pegg, W. de Beer, and M. J. Wingfield. 2006. Three new *Lasiodiplodia* spp., from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. *Mycologia* 98: 423-435.

- Carriers, J. B., and Petrov, M. 1990. Diaporthe, (*Phomopsis* sp.) a new pathogen of coclebur (*Xanthium italicum* Mooretii.) and of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia* 13: 93-106.
- Cedeño, L.; Carrero, C.; Mohali, S.; Palacios-Prü, E., y Quintero, K. 1995. Muerte regresiva en Parchita causada por *Lasiodiplodia theobromae* en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 8(1): 11-14.
- Cruz-Avilés, J.; Cibrián-Tovar, D.; Ramírez-Maldonado, H., y García-Díaz, S. 2001. Etiología y síndrome de los canchales *Cyphonectria*, *Lasiodiplodia* y *Fusicoccum* en eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh). *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*. 7(1): 27-37.
- Cutrim, F. A. and Silva, G. S. 2003. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* a Diferentes Espécies de Plantas. *Fitopatologia Brasileira* 28: 193-194.
- Duran, J.A., Mora, D. 1988. Diagnostico de las enfermedades postcosecha de la papaya en Costa Rica 1. Pruebas de Patogenicidad. *Agronomía Costarricense* 12(1): 1-6.
- Ellis, M. B. 1971. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 507 p.
- Ellis, M. B. and Holliday, B. 1972. *Corynespora cassiicola*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No. 303. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 1-10 p.
- Escalante-Estrada, Y., 2001. Variabilidad patogénica de *Phytophthora parasítica* Dastur en jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19(1): 84-89.

- Galicia-Flores, .L.A. 2007. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial., México. 74 p.
- Gowda, B., 2000. Economic Botany. Fibras, Rubber, Firewood, Timber and Bamboo. Department of botany, University of Agricultural Sciences Hebbal. Bangalore. 109 p.
- Hernández-Morales, J., y Romero-Cova, S., 1990. Identificación del agente causal de “La pata prieta” de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), y prueba de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. Revista Chapingo (67-68): 50-54.
- Hernández-Morales, J.; Ayala-Escobar, V., y Alanís-Martínez, I. 2008. Caracterización de hongos asociados al síntoma de ‘ojo de gallo’ de follaje de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México. Memorias del XXXV Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad de Fitopatología. Monterrey Nuevo León Número de resumen: C-45.
- Herr, L.J.; Lipps, P.E., and Walters, B.H. 1983. *Diaporthe* stem canker of sunflower. Plant Disease. 67: 911-913.
- Holliday, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Cambridge. Cambridge University Press. England. 607 p.
- Khatura, D. C. and Maiti, S. 1978. A new leaf blight disease of *Hibiscus cannabinus* in West Bengal. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology Journal 7: 87.

- Ko, W. W. 2004. *Lasiodiplodia theobromae* as causal agent of Kumquat dieback in Taiwan. Plant Disease 88: 1383.
- Kwon, J. H., Kang, S. W., Kim, J. S. and Park, C. S. 2001. First report of *corynespora* leaf spot in pepper caused by *Corynespora cassiicola* in Korea. Plant Pathology Journal 17: 180-183.
- Kwon, J. H., Jee H. J., and Park, C. S. 2005. *Corynespora* leaf spot of balsam pear caused by *Corynespora cassiicola* in Korea. Plant Pathology Journal 21(2): 164-166.
- Maldonado-Moreno, N., Ascencio-Luciano, G., y Ávila-Valdez, J. 2007. Guía para cultivar soya en el sur de Tamaulipas. Campo Experimental Sur de Tamaulipas, CIRNE-INIFAP. Altamira, Tamaulipas, México. 83 p. (Folleto para Productores Núm. 2).
- Mori, Z. y Panizo, C. 1984. Muerte descendente en manzano, palto y mango inducidos por *Botrydiplodia thebromae*. Fitopatología 19: 47. (Resumen)
- Nalli, R. 1999. Osservazioni sulla patogenicità di *Phomopsis viticola* su vite. Petria 9(3): 269-276.
- Pereira de Melo, W. I. 2003. Fungos endofíticos isolados de vegetais do manguezal do rio pariipe, ilha de itamaracá, pernambuco, Brasil. Tesis de Maestria. Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. 82 p.
- Pereyra, S., Fassio, A., Stewart, S., Rodríguez, M., y Vilaró, D. 2008. Estratégias para el manejo de *Phomopsis* en girasol. IN: Jornada de Cultivos de Verano 2008. Serie Actividades de Difusión N° 550. INIA Uruguay. 4-9 p.

- Persad C., and Fortune M. 1989. A new disease of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa*) caused by *Coniella musaiaensis* var. *hibisci* from Trinidad y Tobago. Plant Pathology Journal 38: 615-617.
- Pine, T. S. 1959. Development of the grape dead-arm disease. Phytopathology 49: 738-743.
- Qi, Y., Chin, K. L., Malekian, F., Berhane, M., and Gager, J. 2005. Biological characteristics, nutritional and medicinal value of roselle, *Hibiscus sabdariffa*. Agricultural Research and Extension Center. Circular 604.
- Rodríguez, G. E.; Maldonado, E. y Ayala, D. M. 1999. Incidencia de la muerte apical descendente causada por *Lasiodiplodia theobromae* en el cultivo de mango en Piura, Perú. Fitopatología 34(2): 90-95.
- Rondón, A. y Guevara, Y. 1984. Algunos aspectos relacionados con la muerte regresiva del aguacate (*Persea Americana* Mill). Agronomía Tropical 34(1-3): 119-129.
- Seaman, W.L., Hoemaker, R.A., and Peterson, E.A. 1965. *Corynespora cassiicola*. Canada Journal Botanic 43: 1461-1469.
- Silva, G. S., Rodrigues, A. A. C. and Soares Júnior, A.C. 1997. Mancha de *Corynespora* em acerola (*Malpighia glabra*). Fitopatologia Brasileira 22: 452. (Resumen).
- Souza, I. M. R. and Silva. G. S. 2001. Fungos associados a plantas daninhas na Ilha de São Luís, Maranhão. Summa Phytopathologica 27: 266-268.
- Sutton, B. C. 1980. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidio, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 696p.

- Suvi, T. 2005. Ectomycorrhizal fungal diversity of birch in Tagamoisa wooded meadow and the adjacent forest. Master of Science Thesis. Tartu University. Institute of Botany and Ecology. Tartu, Estonia. 47p.
- Tejerina, P. N. 2007. La mancha anillada de la soya (*Corynespora cassiicola*). Manual de difusión técnica de la Soya. Departamento de Fitopatología. FUNDACRUZ. 101 p.
- Torzilli, A.P., Balakrishna, S., O'Donnell, K., and Lawrey, J.D. 2002. The degradative activity of a lichenicolous *Fusarium* sp. compared to related entomogenous species. *Mycological Research*. 106(10): 1204-1210.
- Vásquez-López, A., Mora-Aguilera, J., Cárdenas-Soriano, E., y Téliz-Ortiz, D. 2009. Etiología e histopatología de la muerte descendente de arboles de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore y Stearn) en el estado de Guerrero, México. *Agrociencia* 43(7): 717-728.
- Vawdrey, L. L.; and Peterson, R. A. 1999. Diseases of Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) in the Burdekin River Irrigation Area. *Australasian Plant Pathology* 19(2): 34-35.
- Zitter T. A., Hopkins D. L., and Thomas C. E., 2004. American Phytopathological Society - Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas. Editorial Mundi-Prensa. 51 p.
- Wei, T.C. 1950. Notes on *Corynespora*. *Mycology Paper* 35. Commonwealth Mycology Institution, Surrey, England. 34: 1-10.

CAPÍTULO II. INCIDENCIA Y SEVERIDAD DEL MACHADO DE CALICES DE JAMAICA EN DOS ZONAS PRODUCTORAS DEL ESTADO DE GUERRERO

Cinthia Martínez Sánchez, Mc.

Colegio de Postgraduados, 2010

Actualmente el cultivo de la jamaica en el estado de Guerrero es atacado por una enfermedad de etiología desconocida, que se caracteriza por un manchado en la superficie de los cálices; estas lesiones pueden juntarse hasta coalescer, la enfermedad progresa rápidamente. La presente investigación se centra en el estudio de la incidencia y severidad del manchado de cálices de jamaica, para lo cual se evaluaron dos zonas productoras: Huamuchitos y Xalpatláhuac. El comportamiento de la incidencia en Huamuchitos fue mayor registrando 75 %, mientras que en Xalpatláhuac un 59 %. En el caso de la severidad, su desarrollo se muestra también mayor en Huamuchitos obteniéndose un 42 % y en Xalpatláhuac un 18.6 %. Tanto la incidencia y severidad fueron favorecidas por la temperatura y humedad relativa que estuvieron dentro del rango para el desarrollo de los organismos patógenos.

Palabras clave: *Hisbiscus sabdariffa*, presencia de la enfermedad, grado de daño.

**INCIDENCE AND SEVERITY OF SPOTTED CALYCES OF ROSELLE (*Hibiscus
sabdariffa* L.) IN TWO PRODUCTION AREAS IN GUERRERO, MEXICO**

Cinthia Martínez Sánchez

Colegio de Postgraduados, 2010

Currently the cultivation of roselle in Guerrero, is being attacked by a disease of unknown etiology, characterized by a spotted on the surface of the calyces, these lesions may coalesce, until the disease progresses rapidly. This research focuses on the study of the incidence and severity of spotted calyces of roselle, which were evaluated for two growing areas: Huamuchitos and Xalpatláhuac. The behavior of the incidence in Huamuchitos was higher 75%, than Xalpatláhuac 59%. In the case of the severity, its development is also shown higher in Huamuchitos obtaining 42% and Xalpatláhuac 18.6%. Both the incidence and severity were favored by the temperature and relative humidity were within the range for the development of pathogenic organisms.

Additional keywords: *Hibiscus sabdariffa*, presence of disease, degree of damage.

2.1 INTRODUCCIÓN

La incidencia es el número de individuos o partes contables de un individuo (plantas, frutos, hojas, etc.) afectados por una determinada enfermedad respecto al total analizado expresada en porcentaje, es un valor objetivo (Ejemplo: 20% de plantas con manchas), independientemente del grado de severidad. Esta medida es útil para medir el patrón de distribución de la enfermedad en el campo cuando toda la planta está afectada. Se utiliza principalmente para enfermedades causadas por hongos con origen en el suelo y enfermedades sistémicas (Kranz, 1974 y Arneson, 2001).

Asimismo, Campbell y Madden (1990) señalan que la medición de la intensidad (incidencia o severidad) de la enfermedad es un aspecto importante en estudios de epidemiología en plantas.

La severidad es una estimación visual en la cual se establecen grados de daño en una determinada planta, con base en la cantidad de tejido vegetal enfermo. Es subjetiva y hace referencia al porcentaje del área necrosada o enferma de una hoja, fruto, espiga, etc. Es el parámetro que mejor está relacionado con la gravedad de la enfermedad y con los daños causados. De acuerdo a Arneson (2001) dependiendo del área afectada, en enfermedades localizadas será el efecto en la disminución del rendimiento.

Las enfermedades y plagas tienen un impacto en el rendimiento del cultivo de jamaica, independientemente si se refleja en mayor o menor rango. Sin embargo, cuando no se lleva un manejo adecuado del cultivo los aspectos fitosanitarios repercuten significativamente en los costos de producción y merman la calidad y cantidad de los productos obtenidos de este cultivo (Castillo, 2007).

En el estado de Guerrero, los estudios realizados en el cultivo de jamaica para evaluar incidencia y severidad son escasos. Por considerarse de mayor importancia únicamente en la enfermedad conocida como ‘pata prieta’ se han realizado algunas evaluaciones de su incidencia. Hernández (1985) y Hernández *et al.*, (2004) señalan que bajo condiciones favorables esta enfermedad causa pérdidas del orden de 30% y 50%, respectivamente.

Actualmente el cultivo de la jamaica en el estado de Guerrero ha sido afectado por una enfermedad que se caracteriza por la presencia de manchas en los cálices, las que se han asociado por la presencia de *Coniella musaiaensis* Sutton var. *hibisci*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl., *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei y *Phomopsis* sp. Dearn., los cuales aparentemente son los causantes de lesiones necróticas redondeadas a irregulares que aumentan en número y tamaño sobre la superficie del tejido, estas lesiones pueden juntarse y coalescer. La enfermedad progresa rápidamente y en ataques severos seca prematuramente los cálices, esto demerita la calidad del cultivo.

Por tal razón esta investigación tuvo como objetivos:

1. Determinar la incidencia de la enfermedad en dos sitios de estudio.
2. Determinar la severidad de la enfermedad en los cálices de jamaica en los sitios de estudio.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento de los sitios de estudio

Para la toma de datos de incidencia y severidad, se establecieron dos sitios de estudio en plantaciones comerciales durante el ciclo de cultivo verano-otoño del 2008. Los cuales se ubicaron en Huamuchitos municipio de Acapulco y Xalpatláhuac municipio de Tecoaapa, Guerrero, con las características que se indican en el cuadro 5.

Cuadro 5. Características de los sitios de muestreo seleccionados.

Municipio	Localidad	Predio	Coordenadas	Altitud	Precipitación en mm	Tmax °C	Tmin °C
Acapulco	Huamuchitos	Punto del aguacate	N 16°53'23.35'' O 99°31'39.59''	179	1500	33.4	25.7
Tecoanapa	Xalpatláhuac	El puente	N 17°01'18.28'' O 99°19'48.22''	750	1300 a 1500	30	15

En cada sitio de estudio se establecieron tres unidades de 100 m² considerándose a cada una de estas como una repetición, las cuales contenían 100 plantas de jamaica. Y para la evaluación de la severidad se seleccionaron al azar 10 plantas en cada unidad en donde se evaluaron 10 cálices en cada una de estas.

Determinación de la incidencia

Se calculó la proporción de plantas enfermas respecto al total de plantas presentes en cada una de las unidades, la que se expresó en porcentaje. Al final se calculó un valor de incidencia promedio por cada sitio de estudio, para lo cual se empleo la siguiente fórmula (Campbell y Madden, 1990):

$$\text{Incidencia (I)} = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número total de plantas observadas (población)}} \times 100$$

La incidencia de la enfermedad por sitio de estudio estuvo en función de los valores acumulados, registrados en cada unidad de muestreo o repetición (UM1, UM2 y UM3) y expresados en porcentajes tomando como referencia los trabajos realizados por Reyes (1999) como se muestra en el cuadro 6.

Cuadro 6. Valores numéricos en porcentajes expresando grado de infección en las plantas por cada sitio de estudio.

Porcentaje de plantas	Tipo de problema
0% de plantas	Sitio sin problema
1 – 25% plantas	Problema bajo
26-50% de cálices infectados	Problema medio
51 – 100% cálices infectados	Problema alto

Determinación de la severidad

Para evaluar la severidad, se generó una escala cualitativa provisional para poder determinar los porcentajes de daño ocasionados por la enfermedad. Esta escala cualitativa de severidad, consistió en seis clases según el progreso que presentó la enfermedad en el cáliz. La severidad fue calculada con la siguiente fórmula: $\text{severidad (\%)} = \frac{(1 (n) + 2 (n) + 3 (n) + 4 (n) + 5 (n) + 6 (n))}{6(N)} \times 100$. Donde n= número de frutos que se calificaron en el rango de la escala propuesta; 1, 2, 3, 4, 5, y 6= valor de la escala propuesta para evaluar el porcentaje de daño y N= número total de frutos evaluados.

Los grados son presentados en el cuadro 7, donde se utilizaron indicadores numéricos para la severidad del manchado en cálices de jamaica, similares a los utilizados por, Torres (2004), Otero *et al.* (2007) y Martínez *et al.* (2008).

El análisis de la severidad se realizó transformando los valores de la escala a porcentajes, después de lo cual se obtuvo promedios por sitio para la enfermedad.

Cuadro 7. Escala provisional para evaluar la severidad del machado en cálices de jamaica sin cosechar. (Modificada de Torres (2004), Otero *et al.* (2007) y Martínez *et al.* (2008))

Nivel	% de área del cáliz afectada
1	0-5
2	6-10
3	11-25
4	26-50
5	51-75
6	>76

En las unidades (1, 2 y 3) de cada sitio de estudio se seleccionaron 10 plantas al azar y en cada una de estas se realizaron cinco evaluaciones de la severidad de 10 cálices en el periodo del 24 de octubre al 13 de diciembre de 2008, en las fechas que a continuación se indican. Huamuchitos: 24 de octubre, 8 de noviembre, 15 de noviembre, 22 de noviembre y 13 de diciembre de 2008; Xalpatláhuac: 25 de octubre, 9 de noviembre, 16 de noviembre, 23 de noviembre y 14 de diciembre de 2008.

Elaboración de una escala logarítmica diagramática de severidad para la evaluación del manchado de cálices de jamaica

Para el desarrollo y validación de la escala, se utilizó la metodología propuesta por Mora *et al.* (2003) y Hernández (2008); y la utilización de imágenes digitales tomadas en campo. Esta metodología se describe a continuación:

1. Visualización de material vegetal. En esta etapa se tomaron fotos de al menos 50 cálices para generar una muestra representativa de los diferentes grados de severidad. Tejido sano y valores máximos de severidad deben ser cuidadosamente seleccionados.

2. Medición de severidad. Consistió en la digitalización con el programa Adobe Photoshop CS3. El análisis de la imagen se realizó con el programa Gimp 2.0 y el programa Image Tool (Texas University). Las variables estimadas fueron: 1.- área total (AT) del cáliz, 2.- el área enferma (AE) del cáliz, 3.- porcentaje de severidad para cada cáliz, el cual se obtiene de la relación AE/AT multiplicado por 100.

3. Definición del valor máximo de severidad de la enfermedad. Se identificó el valor máximo de porcentaje de severidad de la muestra del material vegetal. Esto con el fin de introducir ese valor en el programa 2LOG v1.0 (Osada y Mora, 1997) como límite máximo de la escala para precisar la distribución de clases dentro del rango observable de la intensidad de enfermedad en las condiciones donde se planea aplicar el sistema de medición.

4. Definición del número de clases. Se introdujo el número de clases deseado en la ventana del programa 2LOG v1.0. Incluyendo la clase 0 para la ausencia de enfermedad y se probaron varios números de clases, en todos los casos con la severidad máxima previamente estimada. La

selección del número de clases tuvo como criterio que los datos del porcentaje de severidad de los órganos tuvieran una distribución aparentemente normal pero sin exceder un número impráctico de clases.

5. Cálculo del límite inferior, punto medio y límite superior de clase. Una vez introducido en el programa 2LOG v1.0 el valor de severidad máxima y el número de clases deseado, se seleccionó el ícono de la opción del cálculo de los intervalos logarítmicos entre y dentro de clase. La opción de Horsfall-Barrat ajustado (H-B ajustado), corresponde a la aproximación matemática correcta de propuesta original de Horsfall-Barrat (H-B), aunque para fines prácticos las diferencias de cálculo pueden no ser significativas.

6. Escala logarítmica diagramática. Se obtuvo una escala logarítmica, la cual para convertirla en diagramática, fue necesario asociar una imagen fotográfica de cada clase. Para este fin se seleccionaron los cálices cuya severidad se aproximó mejor a los puntos medios de cada una de estas.

Para determinar la reproducibilidad de la escala se realizó un ejercicio de validación de la misma, consistente en una evaluación de 10 evaluadores, los cuales estimaron la severidad de las imágenes digitales con síntomas con la escala generada. Con la información obtenida se realizó un análisis de regresión lineal simple, en el cual se consideraron la r^2 como la precisión, y b_1 como la exactitud para cada evaluador (Mora *et al.*, 2003; Tovar *et al.*, 2002)

2.3 RESULTADOS

Determinación de la incidencia

En las tres unidades de muestreo (1, 2 y 3) en el sitio Huamuchitos, las primeras plantas con síntomas se observaron a los 116 días después de la siembra (dds) mientras que en Xalpatláhuac se observaron a los 123 dds; el último registro de plantas con cálices enfermos fue a los 151 dds previo a la cosecha en ambos sitios de estudio.

Determinación de la incidencia en el sitio de muestreo Huamuchitos

En este sitio, la evaluación de la incidencia en la UM1 se desarrolló como se indica a continuación: en la evaluación realizada el 24 de octubre de 2008, no se encontró ninguna planta con cálices manchados; es decir había un 0% de incidencia. Quince días después (8 de noviembre de 2008), a los 116 dds, se registró para esta unidad una incidencia inicial del 38 %; en la tercera evaluación (15 de noviembre de 2008) a los 123 dds, la incidencia fue de 66 % considerando 28 plantas nuevas con enfermedad; en la cuarta evaluación (22 de noviembre de 2008) 130 dds, se registró una incidencia de 88 %, es decir hubo 22 nuevas plantas con síntomas; y finalmente en la quinta y última evaluación que se llevó a cabo el 13 de diciembre de 2008 previo a la cosecha y con 151 dds, la incidencia final acumulada fue de 100 %, para esta unidad, lo que significa que se registraron 12 plantas nuevas con síntomas. Se pudo observar que la mayor incidencia se registró en la segunda evaluación. En la figura 8 y 9 se pueden observar la incidencia no acumulada y acumulada, respectivamente, de esta unidad.

En la unidad de muestreo dos (UM2) de este mismo sitio, en la primera evaluación realizada (101 dds) no se registró ninguna planta con cálices manchados. A los 116 dds (8 de noviembre de

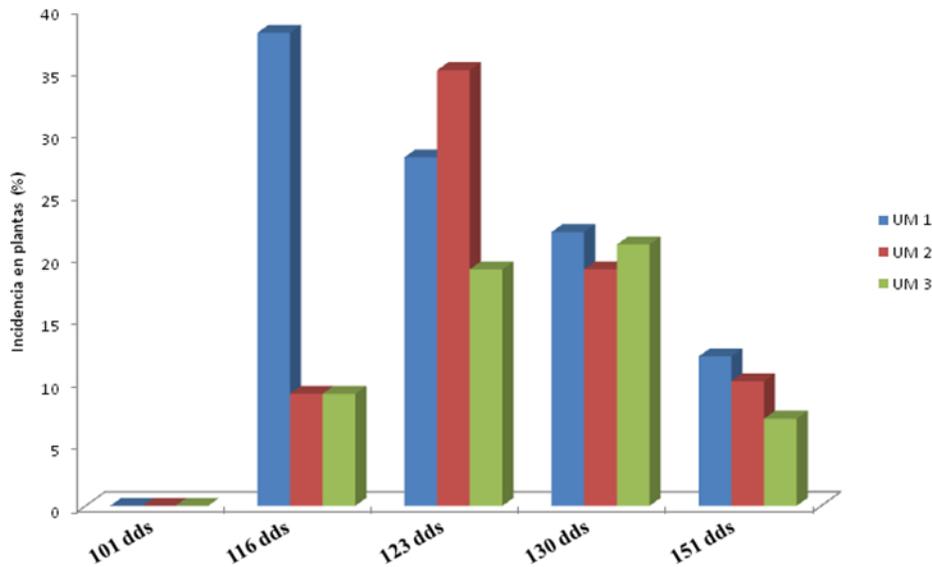
2008), se encontró una incidencia inicial del 9 %; en la tercera evaluación, a los 123 dds (15 de noviembre de 2008), se observó una incidencia de 44 % considerándose 35 plantas nuevas con enfermedad; en la cuarta evaluación a los 130 dds (22 de noviembre de 2008), la incidencia fue de 63 % observándose un incremento de 19 plantas con enfermedad; mientras que en la última evaluación, previo a la cosecha (151 dds) se registró una incidencia acumulada de 73 % para esta unidad, lo que significa que se observaron 10 plantas nuevas con síntomas (Figura 9). La mayor incidencia se registró en la tercera evaluación (Figura 8).

En la UM 3 del mismo sitio de muestreo, a los 101 dds (24 de octubre de 2008) no se observó ninguna planta con cálices manchados; la epidemia se inició a los 116 dds (8 de noviembre de 2008) con 9 % de incidencia inicial. Ocho días después, en la tercera evaluación (15 de noviembre de 2008) a los 123 dds, se observó una incidencia de 28 % en la enfermedad, registrándose 19 plantas nuevas con enfermedad; en la cuarta evaluación (15 de noviembre de 2008) a los 130 dds, la incidencia fue de 45 %, considerándose 21 plantas nuevas con enfermedad; y finalmente en la última evaluación (13 de diciembre de 2008) a los 151 dds, se registró una incidencia acumulada de 52 % para esta unidad, incluyendo siete plantas nuevas con síntomas (Figura 9). La mayor incidencia se observó en la cuarta evaluación a los 130 dds (Figura 8).

Considerando los registros de la enfermedad de las tres UM para este sitio de estudio, la incidencia (300 plantas evaluadas en total) se muestra en el cuadro 8.

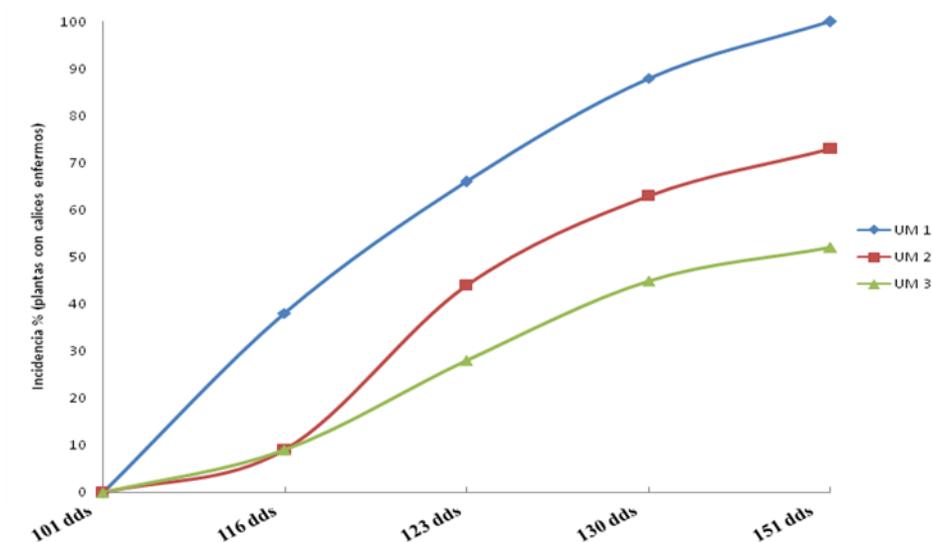
Cuadro 8. Incidencia final en el sitio de estudio Huamuchitos.

UM	Fecha de muestreo				
	24 de Octubre de 2008	8 de Noviembre de 2008	15 de Noviembre de 2008	22 de Noviembre 2008	13 de Diciembre 2008
1	0	38	66	88	100
2	0	9	44	63	73
3	0	9	28	45	52
Σ	0	56	138	196	225
% incidencia final	0.0	18.7	46.0	65.3	75.0



1 01 dds 24/10/2008 **1 16 dds** 08/11/2008 **1 23 dds** 15/11/2008 **1 30 dds** 22/11/2008 **1 51 dds** 13/12/2008

Figura 8. Incidencia no acumulada del manchado en cálices de jamaica en Huamuchitos, municipio de Acapulco, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.



1 01 dds 24/10/2008 **116 dds** 08/11/2008 **123 dds** 15/11/2008 **130 dds** 22/11/2008 **151 dds** 13/12/2008

Figura 9. Incidencia acumulada del manchado en cálices de jamaica en: Huamuchitos municipio de Acapulco, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.

Determinación de la incidencia en Xalpatláhuac

En la UM 1 en la primera y segunda evaluación (25 de octubre y 9 de noviembre, del 2008) no se registraron plantas con la enfermedad; las primeras plantas con síntomas se observaron en la tercera evaluación a los 123 dds (16 de noviembre de 2008), y se registró una incidencia inicial de 3 %, en la cuarta evaluación (23 de noviembre de 2008) a los 130 dds, aumentó la cantidad de enfermedad a 19 % de incidencia, considerándose 16 plantas nuevas con enfermedad; y finalmente en la evaluación cercana a la cosecha (15 de diciembre de 2008) a los 151 dds se registró una incidencia acumulada de 67 % de plantas con cálices enfermos, registrándose 48 plantas nuevas con síntomas (Figura 11). La mayor incidencia se muestra sobre los 151 dds, es decir en la última fecha de evaluación (Figura 10).

En la UM 2 del mismo sitio, en las evaluaciones del 24 de octubre, 8 de noviembre y 16 de noviembre del 2008, no se registraron plantas con enfermedad; fue hasta la cuarta evaluación (23

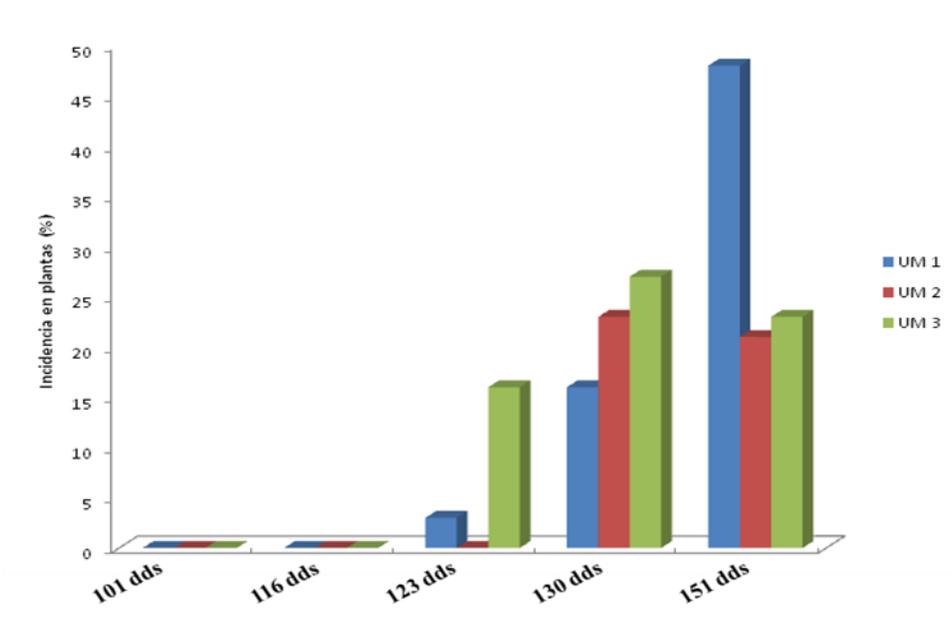
de noviembre de 2008) a los 130 dds, que se registró una incidencia inicial de 23 %, mientras que en la última evaluación, previa a la cosecha (151 dds) se registró una incidencia acumulada de 44 %, considerándose un aumento de 21 plantas nuevas con síntomas (Figura 11). Se observó que la mayor incidencia plantas enfermas a los 130 dds (Figura 10)

En la UM 3 al igual que en la UM1 no se observaron plantas con enfermedad en las dos primeras evaluaciones (24 de octubre y 8 de noviembre de 2008). En la tercera evaluación (16 de noviembre de 2008) a los 123 dds se observó un 16 % de incidencia inicial; en la cuarta evaluación (23 de noviembre de 2008) a los 130 dds, se obtuvo una incidencia de 43 % considerándose 27 plantas nuevas con enfermedad; en la última evaluación (15 de diciembre de 2008) cercana a la cosecha, a los 151 dds se registró una incidencia acumulada de 66 % (Figura 11). El mayor incremento de la incidencia se registró a los 130 dds (Figura 10).

La incidencia de 300 plantas evaluadas en las tres UM para este sitio de estudio se muestra en el cuadro 9.

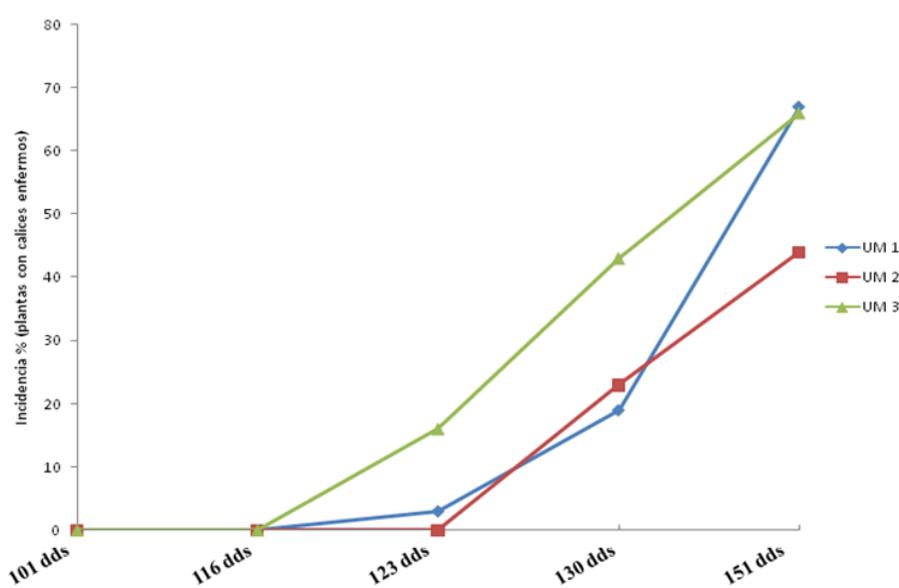
Cuadro 9. Incidencia final en el sitio de estudio Xalpatláhuac.

UM	Fechas de muestreo				
	25 de Octubre de 2008	9 de Noviembre de 2008	16 de Noviembre de 2008	23 de Noviembre 2008	14 de Diciembre 2008
1	0	0	3	19	67
2	0	0	0	23	44
3	0	0	16	43	66
Σ	0	0	19	85	177
% incidencia final	0.0	0.0	6.3	28.3	59.0



101 dds 25/10/2008 **116 dds** 09/11/2008 **123 dds** 16/11/2008 **130 dds** 23/11/2008 **151 dds** 14/12/2008

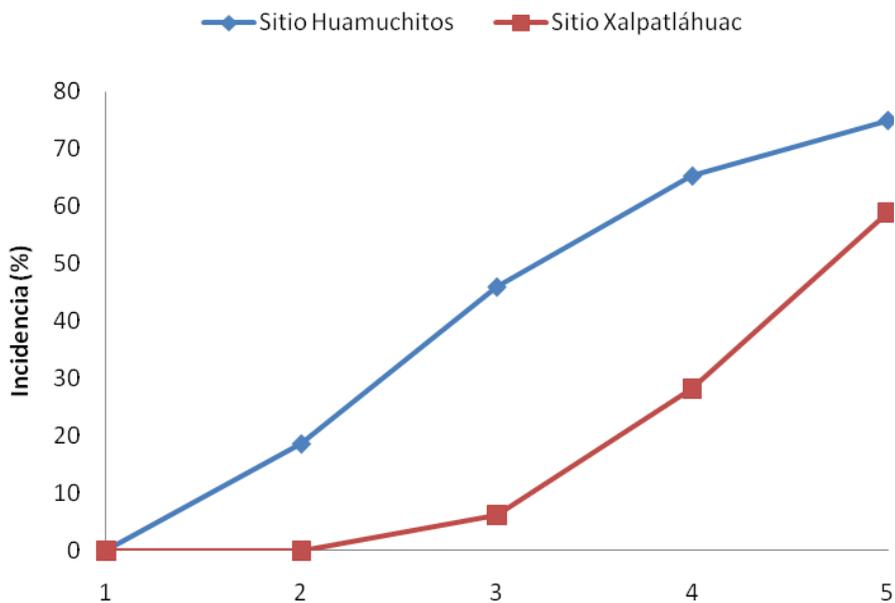
Figura 10. Incidencia no acumulada del manchado en cálices de jamaica en Xalpatláhuac, Tecoaapa, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.



101 dds 25/10/2008 **116 dds** 09/11/2008 **123 dds** 16/11/2008 **130 dds** 23/11/2008 **151 dds** 14/12/2008

Figura 11. Incidencia acumulada del manchado en cálices de jamaica en: Xalpatláhuac, municipio de Tecoaapa, Guerrero, del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.

En el sitio de estudio Huamuchitos, se observó la presencia de la enfermedad en 225 de 300 cálices evaluados de jamaica, lo que representa una incidencia de 75 % (Figura 12). Para el sitio de estudio Xalpatláhuac, se detectaron síntomas en 177 de 300 cálices evaluados que se traduce en 59 % (Figura 12).



1 25/10/2008 **2** 09/11/2008 **3** 16/11/2008 **4** 23/11/2008 **5** 14/12/2008

Figura 12. Incidencia acumulada del manchado en cálices de jamaica Huamuchitos y Xalpatláhuac, Guerrero, en el periodo del 24 de octubre al 14 de diciembre de 2008.

De acuerdo a la escala de grado de daño establecida para el efecto, se determinó que la incidencia de la enfermedad en ambos sitios de estudio, Huamuchitos (75 %) y Xalpatláhuac (59 %) se ubican en la categoría de problema alto.

Determinación de la severidad

La severidad no se determinó por unidades de muestreo, como en el caso de la incidencia, en este caso se tomaron los 300 cálices, estimándose el grado de daño en la última fecha de evaluación (13 y 14 de diciembre de 2008) en ambos sitios de estudio.

En el sitio de estudio Huamuchitos, se determinó que 78 de 300 cálices evaluados, fueron considerados en la clase uno de la escala de daño utilizada, la cual representó un 10.92 % de severidad. 85 de los 300 cálices se clasificaron en la clase dos, representando un 11.9 %; mientras que 67 cálices se registraron para la clase tres, constituyeron un 9.38 %; 43 cálices en la clase cuatro y que constituyen un 6.02 %; y 27 cálices en la clase cinco que representaron un 3.78 % de severidad; estimándose un total de 42 % de severidad total en este sitio de estudio (Cuadro 10).

En el sitio de estudio Xalpatláhuac, 264 cálices de los 300 evaluados se ubicaron en la clase uno de la escala provisional, representando un 16.36 % de severidad; y los 36 cálices restantes se ubicaron en la clase dos, correspondiendo a un 2.23 % de severidad; con una severidad total estimada de 18.6 % para este sitio (Cuadro 10).

Cuadro 10. Severidad del manchado en cálices de jamaica durante el periodo de producción verano-otoño 2008 en Huamuchitos y Xalpatláhuac.

Nivel de severidad	Sitio Huamuchitos			Sitio Xalpatláhuac		
	n° de cálices	% de severidad	% cálices con daño	n° de cálices	% de severidad	% cálices con daño
1	78	10.92	26	264	16.36	88
2	85	11.9	28.3	36	2.23	12
3	67	9.38	22.3	0	0	
4	43	6.02	14.3	0	0	
5	27	3.78	9	0	0	
6	0	0		0	0	
Total	300	42	100	300	18.6	100

Como puede observarse la severidad estimada en Huamuchitos (42 %) fue mayor a la obtenida en Xalpatláhuac (18.6 %), es importante ya que la severidad seguramente está causando un deterioro en la calidad de los cálices

Elaboración de una escala logarítmica diagramática de severidad para evaluación de cálices

La escala generada para la evaluación de la severidad del manchado de cálices de jamaica se diseñó con seis niveles de severidad con los valores de 0, 1.77, 4.19, 9.56, 20.38, 38.36 y 62.92% del área total del cáliz dañado (Figura 13).

El valor máximo de severidad de manchas encontradas en los cálices de jamaica evaluados fue de 62.92%. Valores superiores a éste, es raro de encontrar dado a que el periodo de cosecha comienza a este grado de la enfermedad. Cada clase se representó con un límite inferior y superior en porcentaje de severidad del manchado de cáliz de jamaica (Cuadro 11).

Cuadro 11. Punto medio, límite inferior y superior de una escala logarítmica con 7 clases y 62.92 % de severidad máxima obtenida mediante el programa 2LOG para medir la mancha negra en el cáliz de jamaica (*H. sabdariffa*)

Clase	Límite inferior	Punto Medio	Límite superior
	%	%	%
0	0	0	0
1	0	1.81	2.81
2	2.81	4.35	6.68
3	6.68	10.11	15.02
4	15.02	21.75	30.40
5	30.40	40.71	51.91
6	51.91	62.92	-

Los resultados de la validación de la única evaluación de la escala, indicaron que la precisión de los evaluadores no fue satisfactoria, ya que mostraron r^2 del rango de 0.75-0.90, lo cual significó una subestimación en la precisión de la escala y se reflejó en la exactitud (b_1), ya que se obtuvieron valores desde 0.08-0.98; esto no es suficiente, por lo que se recomienda realizar una segunda evaluación (Cuadro 12).

Cuadro 12. Coeficientes de correlación (r^2) y parámetros de exactitud (b_1) de cálices de *H. sabdariffa* con síntomas de manchado con la escala logarítmica diagramática propuesta.

Evaluador	Evaluación	
	Precisión (r^2)	Exactitud (b_1)
E1	0.8422	0.7427
E2	0.8414	0.7289
E3	0.8952	0.9213
E4	0.7572	0.8676
E5	0.8659	0.7620
E6	0.8833	0.9848
E7	0.8688	0.7575
E8	0.8877	0.0890
E9	0.8535	0.8765
E10	0.9064	0.9576

Una vez obtenida la escala se procedió a su validación, con el programa Validar-Per v1.0 (Mora y Acevedo, 2009¹). El análisis de regresión entre la severidad estimada en promedio y la severidad real media mediante análisis de imagen presenta una $r^2=0.88$, lo que significa que los valores de severidad obtenidos a partir de la escala diagramática son altamente similares a los valores reales de severidad (Figura 14).

¹Notas del curso de Epidemiología Agrícola, Instituto de Fitosanidad-Fitopatología. Verano 2009.

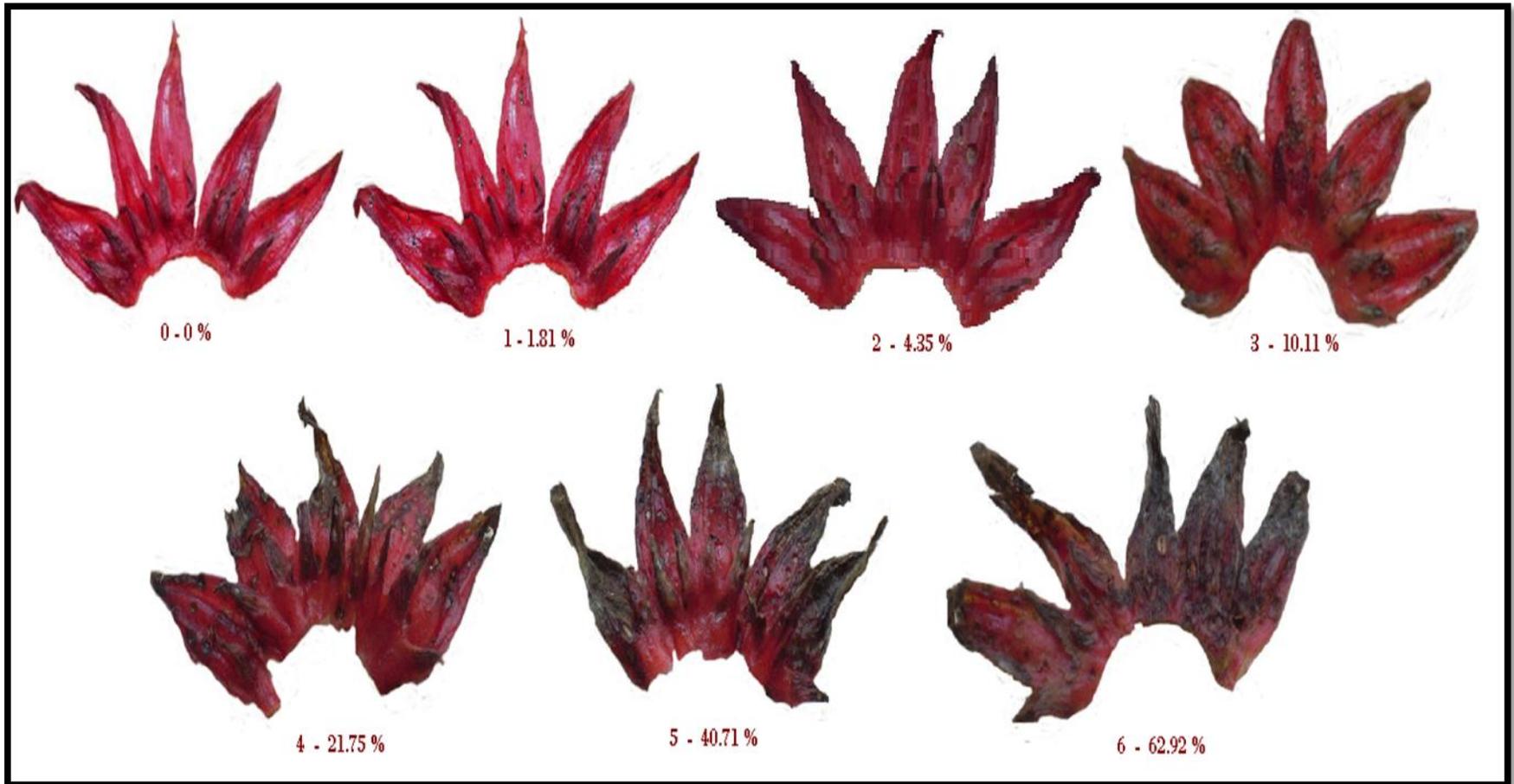


Figura 13. Escala logarítmica diagramática para la evaluación de la severidad de la mancha negra en cálices de jamaica en Guerrero, México. Los números 0-6 indican las clases y el porcentaje correspondiente al valor medio de clase. Los intervalos de cada clase se muestran en el cuadro 11.

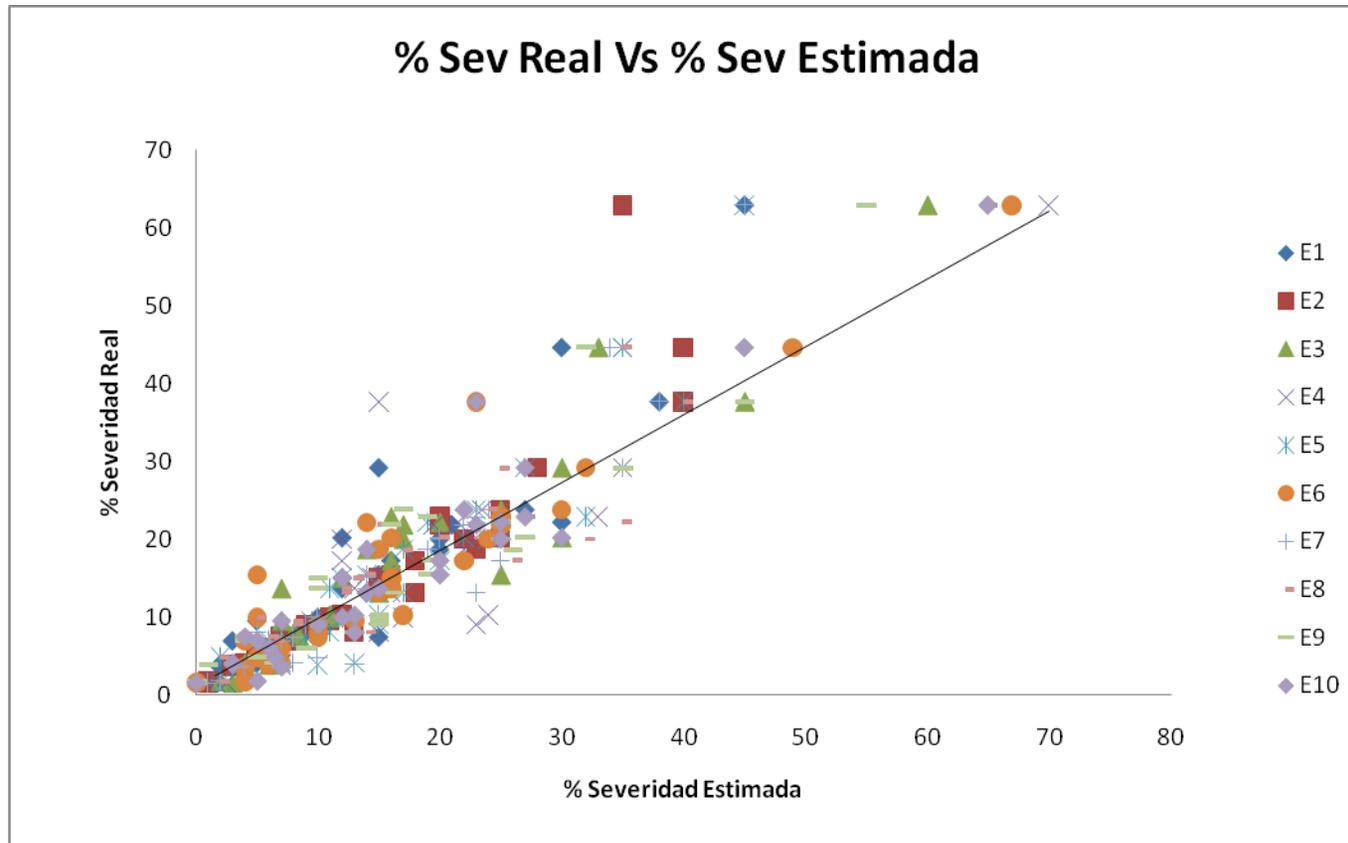


Figura 14. Análisis de regresión entre la severidad estimada con apoyo de la escala diagramática considerando el valor medio por nivel, contra la severidad real medida a través de análisis de imagen. E= Evaluador.

2.4 DISCUSIÓN.

Los incrementos de los niveles de incidencia y severidad de la enfermedad del manchado en cálices, están estrechamente relacionados con la temperatura y humedad relativa. Las diferencias de incidencia y severidad en los sitios de estudio se deben a las condiciones de cada uno.

En el sitio de estudio Huamuchitos municipio de Acapulco situado a 175 m de altitud, los síntomas se desarrollaron a los 116 días después de la siembra (dds). En este sitio se registró una temperatura promedio de 33 °C y la humedad de 80 % (Apéndice 8), favoreciendo el desarrollo de la enfermedad. En el mes de noviembre se observó la mayor incidencia de la enfermedad. Sutton (1980) y Pesad & Fortune (1989), que estudiaron al organismo *Coniella* en *H. sabdariffa*, indican que este patógeno requiere temperaturas arriba de 15 °C para poder infectar los tejidos de las plantas, y también que los conidios germinan e infectan más rápido a 24-27 °C, con humedad relativa alta; los datos obtenidos de estaciones climáticas cercanas al sitio de estudio Huamuchitos coinciden con los reportados por los anteriores autores. Por otra parte, Sánchez (1979), Hartman *et al.*, (1999) y Tejerina (2007) estudiaron a *C. cassicola* en el cultivo de soja, y ellos reportan que este patógeno se desarrolla mejor con alta humedad relativa (mayor a 80 %), con temperaturas de 18 a 21 °C. Zorilla *et al.* (1994), analizaron al organismo *Phomopsis*, y reportaron que se desarrolla mejor a una temperatura de 25 °C con una humedad relativa del 95 %, mientras que Janse *et al.* (2006), manejo temperaturas de 25 a 30 °C obteniendo desarrollo de muerte regresiva causada por *Phomopsis* en el cultivo de *Aspalathus linearis* (N.L.Burm.) R.Dahlgren. Este rango de temperaturas reportadas por estos autores, son similares a las encontradas en el sitio de referido. Gómez *et al.*, (2009) reporta que el hongo *Lasioidiplodia*

en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn), tiene un rango de desarrollo desde los 13 °C hasta temperaturas mayores de 25 °C, con una alta humedad relativa, lo anterior coincide con lo expuesto por Zitter (2004) para este organismo, causando pudrición en frutos postcosecha de regiones cálidas. Con estas condiciones que prevalecen en el sitio Huamuchitos es probable que ocurra una mayor incidencia de los organismos que causan el manchado en cálices de jamaica.

A diferencia del sitio anterior, Xalpatláhuac municipio de Tecoanapa se encuentra a una altitud de 750 m. En este sitio los primeros síntomas se observaron a partir de los 123 dds, con una temperatura promedio de 33 a 35° C y humedad relativa promedio de 36.48% (Apéndice 9) en los meses de octubre y noviembre, incrementándose a mediados de diciembre cuando se acerca la fecha de cosecha; contrario a lo encontrado en Huamuchitos, en Xalpatláhuac la incidencia fue menor. No obstante que la temperatura fue casi igual que en el sitio anterior, la humedad relativa fue menor, lo que seguramente influyó para que se presentara una incidencia más baja, coincidiendo con lo señalan los autores mencionados, para estos mismos patógenos.

De igual manera que la incidencia, la severidad fue diferente en los sitios de estudio, lo que seguramente estuvo relacionado con las condiciones climáticas, así mientras en Huamuchitos se estimó una severidad del 42 %, en Xalpatláhuac fue del 18.6 %. Romero (1994) y Nuez *et al.*, (1996), señalan que una correlación muy estrecha principalmente entre temperatura y humedad aumentan la capacidad de reproducción y potencial patogénico de los hongos. Llácer *et al.*, (2000) mencionan que las esporas de la mayoría de los hongos germinan en condiciones de elevada humedad relativa (80-90 %), con temperatura optima entre 25 – 30 °C con temperaturas permisivas mínimas y máximas bien

definidas. Zorrilla (1994), Gally (1999) y Tejerina (2007) reportan que con las condiciones anteriores los organismos como *Corynespora* y *Phomopsis* en el cultivo de soja, provocan una aguda severidad de la enfermedad la cual está ampliamente influenciada por el factor climatológico. Por otro lado, Gómez *et al.* (2009), señala que en frutos de mamey inoculados con *L. theobromae*, expuestos a temperatura ambiente (25-30 °C) y alta humedad relativa, pierden firmeza, peso y registran pudrición de entre 10 a 30 % del tejido comercial. Persad y Fortune (1989), demostraron que la mancha generada en follaje de *H. sabdariffa* por el organismo *Coniella*, alcanza una mayor área afectada cuando las condiciones anteriores se presentan.

Estos datos obtenidos indican la influencia de la temperatura y humedad en la incidencia y severidad de la enfermedad del manchado de cálices de jamaica en los sitios de estudio.

Para la evaluación del grado de enfermedad, principalmente en hojas, de varios cultivos existen muchas escalas diagramáticas, como las realizadas por James (1971), Nagarajan y Kumar (1997) y Fetch y Steffeson (1999) para evaluar resistencia de cebada a *Puccinia teres*; la diseñada por Mont (2002) y publicada por Torres (2004) para la evaluación de *Phytophthora infestans* en hojas del cultivo de papa (*solanum tuberosum* L.), Oidiopsis en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) causada por *Erisiphe polygoni*, y escalas diagramáticas diseñadas para evaluación de daño en *Vigna unguiculata* causada por *Entyloma vignae* (Michereff *et al.*,2006); todas realizadas con el propósito de cuantificar el daño de una enfermedad que puede realizarse con alta o baja precisión, dependiendo del objetivo de la investigación.

La escala logarítmica diagramática propuesta en el presente trabajo puede ofrecer mayores ventajas para evaluar la severidad del manchado de cálices de jamaica, ya que el emplear escalas arbitrarias diagramáticas (no logarítmicas) basadas en porcentajes de tejido dañado con siete clases y un 100% de severidad, sin tener referencia fotográfica, asignándole a cada cáliz colectado una categoría que quizá no vaya con el porcentaje de severidad real, arrojaría datos confusos, mediante comparación con un diagrama que representan las clases de 0 a 6. Aunque es necesario validar en la práctica ambos sistemas de medición para estimar la precisión, exactitud y reproducibilidad. Por ejemplo, en el sistema propuesto la clase 6 es de 62.92 %, registrando cálices en ese rango de severidad, mientras que en el sistema arbitrario, este rango de severidad estaría incluido en la clase 5 lo que sugiere un sistema normal asimétrico cuyas implicaciones en el análisis temporal de epidemias pueden ser sustantivas. Por otra parte, una escala debe tener suficientes clases, para proporcionar una resolución adecuada para diferenciar grados de severidad. Esta debe incluir el rango de severidad de la enfermedad y estar acorde con la Ley de Weber-Fechner (Campbell y Madden, 1990), quienes mencionan que “La agudeza visual es inversamente proporcional al logaritmo del estímulo”. Si hay pocas clases (<5) se reduce la resolución en la evaluación de la severidad y afecta la correcta caracterización de la forma de la curva de una epidemia y consecuentemente en la correcta selección del modelo matemático para la estimación de parámetros epidemiológicos. Si hay muchas clases (>10), ésta se hace confusa e impráctica en su aplicación.

Es importante considerar que la utilización de escalas logarítmicas diagramáticas para la evaluación de daño actualmente solo son utilizadas por investigadores, pues resulta confusa para los productores debido a la distinta distribución de los síntomas dentro del cultivo

evaluado, es por eso que varios autores como Madrigal (2002), Tovar *et al.*, (2002) y Hernández (2008), señalan que la utilización de las mismas requiere de entrenamiento y capacitación para la adecuada identificación de síntomas y de cuantificación del daño.

2.5 CONCLUSIÓN

La incidencia acumulada del manchado en cálices de jamaica se presentó en 75 % en Huamuchitos y un 59 % en Xalpatláhuac, evaluados durante el periodo de siembra de Julio-Diciembre 2008. Lo que indica la influencia de las condiciones climáticas en cada sitio.

La severidad fue de aproximadamente un 42 % y 18.6 %, en Huamuchitos y Xalpatláhuac, respectivamente.

La escala diagramática desarrollada en este trabajo de investigación es una aportación para la evaluación de la severidad del daño por manchas en el cáliz de jamaica. La escala propuesta tuvo una precisión del $r^2=0.75-0.90$ y una reproducibilidad de 0.88 por lo que se considera confiable para hacer evaluación de severidad en el cultivo de la jamaica.

2.6 LITERATURA CITADA

- Agrios, N. G. 2006. Fitopatología. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Noriega editores. México. 759 p.
- Arneson, P. A. 2001. Epidemiología de las enfermedades de las plantas: Los aspectos temporales. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-A-2001-0524-01. Cornell University. Online in: www.apsnet.org (Consultado el 23 de Diciembre de 2008).
- Castillo-Solano, C. 2007. Manual de Producción y Paquete Tecnológico de Jamaica. Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Puebla. 25 p.
- Campbell, C.L., y Madden, L.V. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley and Sons. New York, USA. 532 p.
- Escalante-Estrada, Y. 2001. Variabilidad patogénica de *Phytophthora parasítica* Dastur en Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 19(1): 84-89.
- Fetch, T. G. Jr., and Steffenson B. J. 1999. Ratting scales for assessing infection responses of barley infected with *Cochliobolus sativus*. Plant Disease 83: 213-217.
- Gally, T., y González, B. 1999. Presencia de hongos que afectan a la calidad de las semillas de soja en Argentina. Memorias del XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco, México. Resumen 86.

- García-De Miranda, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Ed. Indianápolis 30. México. 217 p.
- Gómez-Jaimes, R., Nieto-Ángel, D., Téliz-Ortiz, D., Mora-Aguilera, A., Martínez-Damián, M. T., y Vargas-Hernández, M. 2009. Evaluación de la calidad e incidencia de hongos en frutos refrigerados de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). *Agrociencia* 43: 37-48.
- Hartman, G.L, Sinclair, J.B, Y Rupe, J.C. 1999. Compendium of Soybean Diseases. Third Ed. APS. Press. Minnesota.USA. 100 pp.
- Hernández-Morales, J. 1985. Identificación del agente causal de la ‘pata prieta’ de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.) y prueba de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp.
- Hernández-Morales, J., y Romero-Cova, S. 1990. Identificación del agente causal de “La pata prieta” de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), y prueba de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. *Revista Chapingo* (67-68): 50-54.
- Hernández-Morales, J.; Martínez-Alanís, I., y Valadez, M.E. 2004. Variabilidad genética de *Phytophthora parasitica* D., agente causal de la pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) mediante RAPD y RAMPnr. Memorias XXXI Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad de Fitopatología. Veracruz, Ver. L-71.

- Hernández-Sánchez, E. 2008. Epidemiología y control del agente causal de la mancha negra (*Pseudocercospora opuntiae*) en nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* L.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 90p.
- Hutton, C. 1965. An account of the calculations made from the survey and measures taken at Schehallien, in order to ascertain the mean density of the Earth. Philosophical Transactions of the Royal Society of London 68: 756-757.
- James, W. C. 1971. An illustrated series of assessment keys for plants diseases their preparation and usage. Canada Journal Plant Disease 51(2): 39-653.
- Kranz, J. 1974. Comparison of epidemics. Annual Review Phytopathology 12: 355-374.
- Llácer, G., López, M. M., Trapero, A., y Bello, A. 2000. Patología vegetal. Tomo II. Ed. Mundi-Prensa. México. 1165 p.
- Madrigal-Rodríguez, J. 2002. Variación patogénica de *Cochliobolus sativus* (Ito y Kur.) Drechs. (*Helminthosporium sativum* P. K. B.) y resistencia de cebada (*Hordeum vulgare* L.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 65 p.
- Martínez-Morales, A.; Hernández-Hernández, L.U.; Osorio-Osorio, R.; López-Martínez, V.; Bautista-Baños, S., y Guillén-Sánchez, D. 2008. Incidencia y severidad de *Botrydiplodia theobromae* en frutos de zapote mamey en Jalpa de Méndez, Tabasco, México. Revista UDO Agrícola 8(1): 29-32.

- Mendoza-Zamora, C. 1999. Enfermedades fungosas de hortalizas y fresa. In: R.S. Anaya y N.J. Romero (eds.). Hortalizas: plagas y enfermedades. Editorial Trillas. México. 25-62 p.
- Michereff, S. J.; Andrade, D.E.G.T.; Noronha, M.A. 2006. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade do carvão da folha do caupi. *Summa Phytopathologica* 32: 51-56.
- Mora-Aguilera, G., Rivas-Valencia, P., Góngora-Canul, C., Tovar-Soto, A., Cristóbal-Alejo, J., Loeza-Kuk, E., Michereff, S., Marinelli, A., y Osada-Velázquez, K. 2003. Sistemas computarizados en la epidemiología I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola 15-12 de octubre, Puerto Vallarta, Jalisco, México. 2-22 p.
- Nagarajan, S., and Kumar J., 1997. Foliar blights of wheat in India, Germplasm improvement and future challenges for sustainable, high yielding wheat production. In: *Helminthosporium* blights of wheat: spot blotch and tan spot. Proceedings of an International workshop held at CIMMYT. El Batán, México. 52-58 p.
- Nuez-Viñals, F.; Gil-Ortega, R., y Costa-García, J. 1996. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ed. Mundi-prensa. Madrid, España. 607 p.

- Otero, L.; Aguín, O.; Sainz, M.J. y Mansilla, P. 2007. Incidencia y severidad de la enfermedad foliar causada por *Mycosphaella* spp., en eucaliptales de Galicia (no España). Boletín del CIDEU 4: 3-8. ISSN: 1885-5237.
- Pedroza-Sandoval, A., y Téliz-Ortiz, D. 1993. Dinámica temporal de un complejo epidemiológico foliar en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) usando diferentes practicas de manejo. Revista Mexicana de Fitopatología 11: 118-123.
- Pereira de Melo, W. I. 2003. Fungos endofíticos aislados de vegetais do manguezal do rio pariipe, ilha de itamaracá, pernambuco, Brasil. Tesis de Maestria. Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. 82 p.
- Pereyra, S.; Fassio, A.; Stewart, S.; Rodríguez, M., y Vilaró, D. 2008. Estrategias para el manejo de *Phomopsis* en girasol. IN: Jornada de Cultivos de Verano 2008. Serie Actividades de Difusión N° 550. INIA Uruguay. 4-9 p.
- Persad C., and Fortune M. 1989. A new disease of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa*) caused by *Coniella musaiaensis* var. *hibisci* from Trinidad y Tobago. Plant Pathology Journal 38: 615-617.
- Reyes-Parada, J. A. 1999. Determinación del agente causal de cáncer en el cultivo del níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.), su distribución, incidencia y severidad en la aldea San Cristóbal el Alto, la Antigua Guatemala, Sacatepéquez. Tesis de Licenciatura. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 59 p.

- Romero-Cova, S., 1994. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 347 p.
- Sutton, B. C. 1980. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidio, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 696p.
- Tejerina, P. N. 2007. La mancha anillada de la soya (*Corynespora cassiicola*). Manual de difusión técnica de la Soya. Departamento de Fitopatología. FUNDACRUZ. 101 p.
- Torres-Limache, C. 2004. Ejemplos de escalas diagramáticas de evaluación de enfermedades. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Perú. 20 p.
- Tovar-Soto, S.A., Hernández, M.M., Cristóbal-Alejo, J., Romero-Hijo, R., y Mora-Aguilera, G. 2002. Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporoides* Penz.) en Chirimoyo (*Annona cherimolla* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 20: 103-109.
- Zorrilla, G., Knapp, A. D., and McGee, D. C. 1994. Severity of Phomopsis seed decay, seed quality evaluation, and field performance of soybean. Crop Science 34: 172-177.
- Zitter T. A., Hopkins D. L., and Thomas C. E., 2004. American Phytopathological Society - Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas. Editorial Mundi-Prensa. 51 p.

A P E N D I C E

1. Componentes para la preparación Glicerol al 50%:

Componentes:	Cantidad:
Glicerol.....	50 mL
Agua destilada.....	50 mL

2. Procedimiento para la preparación de medio de cultivo PDA (Papa+Dextrosa+Agar).

Componentes:

Papa	200 g
Dextrosa	20 g
Agar	15 g
Agua destilada.....	aforar a 1000 mL.

Procedimiento:

Partir 200g de papa sin cáscara, introducirlos en un matraz de un litro de capacidad, enjuagarlos dos ó tres veces, agregar 500 ml. de agua destilada. Incorporar el agar en 500 ml. de agua destilada dentro de un matraz de un litro de capacidad. Poner la papa y el agar a 15 lb/ pulg² y 120° C durante diez a quince minutos en olla de presión o autoclave. Concluido este tiempo, se filtra la infusión de papa a través de manta de cielo; agregar la dextrosa a la solución de agar y disolver rotando ligeramente. Juntar la solución de agar-dextrosa con la infusión de papa filtrada, mezclar bien y aforar von agua destilada a 1000 ml.

3. Procedimiento para la preparación de medio de cultivo PCA (Papa+Carrot+Agar):

Papa 20 g
Zanahoria..... 20 g
Agar15 g
Agua destilada..... aforar a 1000 mL.

Partir 20g de papa sin cáscara y 20g de zanahoria, introducirlos en un matraz de un litro de capacidad, enjuagarlos dos ó tres veces, agregar 500 ml. de agua destilada. Incorporar el agar en 500 ml. de agua destilada dentro de un matraz de un litro de capacidad. Poner la papa, la zanahoria y el agar a 15 lb/ pulg² y 120° C durante diez a quince minutos en olla de presión o autoclave. Concluido este tiempo, se filtra la infusión de papa a través de manta de cielo; agregar la dextrosa a la solución de agar y disolver rotando ligeramente. Juntar la solución de agar-dextrosa con la infusión de papa y zanahoria filtrada, mezclar bien y aforar von agua destilada a 1000 ml.

4. Procedimiento para la preparación de medio de cultivo jugo de verduras (V8-agar):

Componentes:

Jugo de verduras V-8 centrifugado 100 mL
(Se obtiene de 150 ml. de jugo V-8)
CaCO₃ 2 g
Agar 15 g
Agua destilada.....285 mL

Procedimiento:

Agregar el CaCO₃ al jugo de verduras V-8, agitar hasta disolverlo, dejar reposar esta solución durante 10 minutos. Para clarificar la solución durante 10 minutos. Para clarificar la solución centrifugar durante 20 minutos a 3000 R.P.M. Decantar y juntar el líquido sobrenadante hasta completar la cantidad requerida.

Utilizar los 900 ml de agua destilada para disolver el agar, mezclando esta solución con el jugo de verduras V-8 centrifugado.

5. Programación de entrada en SAS de las Pruebas de Patogenicidad

```
DATA areapp;
input trat $ rep area;
cards;
A1 1 60
A1 2 32
A1 3 30
A1 4 0
A1 5 0
A2 1 0
A2 2 0
A2 3 0
.
.
.
BLANCO1 3 0
BLANCO1 4 0
BLANCO1 5 0
BLANCO2 1 0
BLANCO2 2 0
BLANCO2 3 0
BLANCO2 4 0
BLANCO2 5 0
;
proc print;
proc glm;
class trat rep;
model area=trat;
means trat/lsd tukey duncan dunnett snk;
*/Tittle 'Análisis de varianza para variable Desarrollo de lesión por
cáliz en PP'*/;

run;
```

6. Tabla de ANDEVA para las pruebas de patogenicidad

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	14	24.36908133	1.74064867	4.74	0.0002
Error	31	11.37798583	0.36703180		
Total correcto	45	35.74706716			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE
0.681709	25.93787	0.605831

7. Prueba de Medias de las pruebas de patogenicidad

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para LEY

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

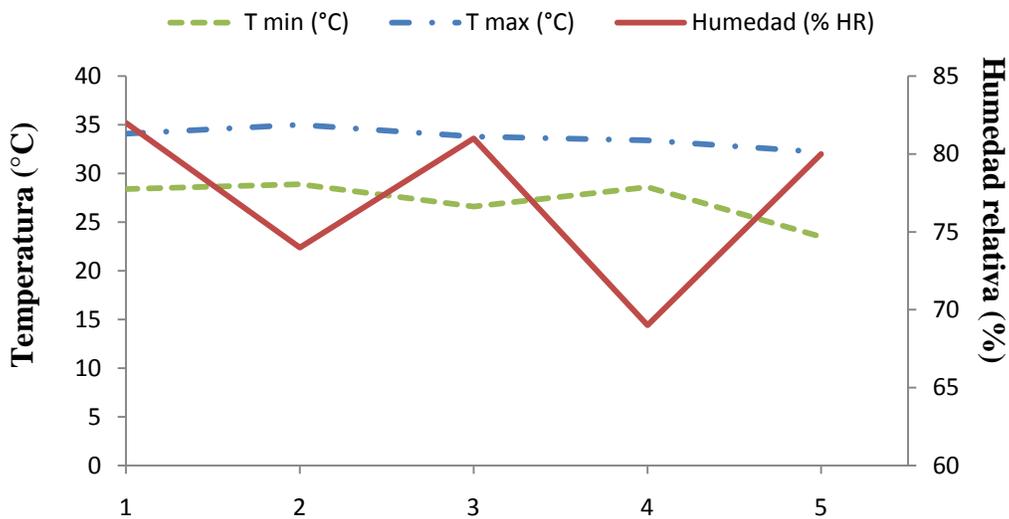
Alfa	0.05
Error de grados de libertad	31
Error de cuadrado medio	0.367032
Valor crítico del rango estudentizado	5.19767
Diferencia significativa mínima	1.9468
Media armónica de tamaño de celdas	2.616279

NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

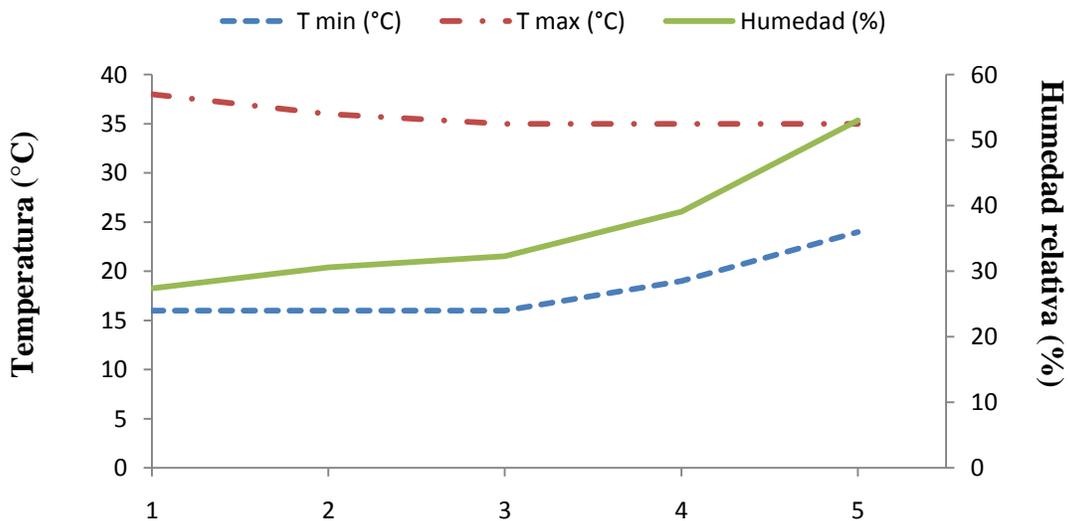
Tukey Agrupamiento	Media	N	trat
A	3.9456	3	AC1
B	3.6538	3	A1
C	3.0605	5	ACD1
C	2.5660	5	C1
C	2.2822	2	B1
C	2.1187	3	BCD1
C	2.1187	3	AD1
C	2.0794	2	BC1
C	2.0370	4	BD1
C	1.9835	3	CD1
C	1.8877	3	ABCD1
C	1.7329	2	D1
C	1.5607	3	AB1
C	1.5171	4	ABC1
D	1.0986	1	B2

8. Condiciones climáticas en el sitio de estudio Huamuchitos municipio de Acapulco, Guerrero, con datos tomados de la estación cercana



1	25/10/2008	2	09/11/2008	3	16/11/2008	4	23/11/2008	5	14/12/2008
----------	------------	----------	------------	----------	------------	----------	------------	----------	------------

9. Condiciones climáticas en el sitio de estudio Xalpatláhuac municipio de Tecoaapa, Guerrero, con datos tomados estaciones climáticas cercanas



1	25/10/2008	2	09/11/2008	3	16/11/2008	4	23/11/2008	5	14/12/2008
----------	------------	----------	------------	----------	------------	----------	------------	----------	------------
