

Etiología de la Mancha Acuosa de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Tabasco, México

Etiology of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Watery Spot in Tabasco, Mexico

Elizabeth Correa Sánchez, Carlos Fredy Ortiz García, Magdiel Torres de la Cruz, Consuelo del Carmen Bautista Muñoz, María del Carmen Rivera Cruz, Luz del Carmen Lagunes Espinoza, Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, km 3.5 Carr. Cárdenas-Huimanguillo, H. Cárdenas, Tab., CP 86500, México; José Hilario Hernández Salgado, Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, km 125.5 Carr. México-Puebla, Col. La Libertad, Cholula, Pue., CP 72130, México. Correspondencia: cfortizg@gmail.com

(Recibido: Diciembre 04, 2010 Aceptado: Abril 15, 2011)

Correa SE, Ortiz GCF, Torres de la CM, Bautista MCC, Rivera CMC, Lagunes ELC y Hernández SJH. 2011. Etiología de la mancha acuosa de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Tabasco, México. Revista Mexicana de Fitopatología 29:165-167.

Resumen. Una enfermedad de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) de etiología desconocida apareció epidémicamente en Tabasco, México, durante 2008 y 2009 con incidencia superior al 70%. La plantas enfermas se caracterizaron por manchas foliares circulares e irregulares color marrón claro, avance de la necrosis con apariencia acuosa a toda la lámina foliar y peciolo. Las manchas foliares iniciaban en las hojas inferiores avanzando a las hojas superiores, provocando defoliación total con la consecuente pérdida en productividad. Mediante postulados de Koch, morfología de la colonia y secuenciación de ADN, se determinó que el agente causal corresponde al hongo *Pilidiella diplodiella* (sin. *Phoma diplodiella*). Este es el primer reporte de *P. diplodiella* causando enfermedad en el cultivo de jamaica, que en el presente estudio se la ha denominado 'mancha acuosa' debido a la apariencia acuosa en una de sus etapas de desarrollo.

Palabras claves adicionales: *Pilidiella diplodiella*, *Phoma diplodiella*, jamaica.

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) (Malvaceae) es un arbusto anual, cuyo centro de origen se ubica en los países tropicales de Asia. En México, *H. sabdariffa* fue introducida por los españoles durante la colonización y ha alcanzado un notable progreso debido a la diversidad de su uso en la alimentación humana y animal, propiedades medicinales, así como su utilización en la industria cosmética y en la elaboración de colorantes (Ahmed, 2007). Se cultiva principalmente en los Estados de Colima, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Guerrero. En Tabasco, este cultivo está tomando relevante importancia al ser introducido como una opción agrícola sustentable. Sin embargo, en el 2008 se presentó una enfermedad de etiología desconocida en el Municipio de Cárdenas,

Abstract. A disease of the roselle (*Hibiscus sabdariffa*) of unknown etiology epidemically appeared in Tabasco, Mexico, during 2008-2009 with more than 70% incidence. The diseased plants were characterized by circular and irregularly shaped, light brown colored spots on leaves, necrotic lesions with water-like appearance extended to the entire leaf blade and petiole. The leaf spots initiated from the lower leaves and advanced to higher foliage, resulting in full defoliation and yield losses. Through postulates from Koch, the colony's morphology and DNA sequencing, it was concluded that the causal agent corresponds to the fungus *Pilidiella diplodiella* fungus (syn. *Phoma diplodiella*). This is the first report of *P. diplodiella* causing a disease in roselle, that in the present study has been referred to as watery spot due to the water-like appearance in one of its stages of development.

Additional key words: *Pilidiella diplodiella*, *Phoma diplodiella*, roselle.

Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) (Malvaceae) is an annual or perennial herb or woody-based subshrub, whose center of origin is located in the tropical countries of Asia. In Mexico, *H. sabdariffa* was introduced by the Spanish during the colonial period and has achieved a remarkable progress due to the diversity of its use in human and animal nutrition, medicinal properties, use in the cosmetic industry, and in the preparation of dyes (Ahmed, 2007). It is grown mainly in the states of Colima, Michoacan, Oaxaca, Puebla and Guerrero. In Tabasco, this crop is taking significant importance resulting in its introduction as a sustainable agricultural option. However, in 2008, a disease of unknown etiology was discovered in the town of Cardenas, Tabasco, Mexico, with an incidence greater than 70%. The plants diseases were characterized by circular and irregular shaped, light brown colored, spots on leaves and the presence of necrotic lesions with water-like appearance along the entire leaf blade. As the necrosis progressed, light brown colored concentric rings of a soft consistency were shown, as well as small dark brown colored bodies, grouped and protruding

Tabasco, México, con una incidencia superior al 70%. Las plantas enfermas se caracterizan por manchas foliares circulares e irregulares color marrón claro, presencia de necrosis con apariencia acuosa a toda la lámina foliar. Conforme avanzaba la necrosis, se muestran anillos concéntricos marrón claro de consistencia suave, así como pequeños cuerpos de color marrón oscuro agrupados que sobresalen la cutícula de la hoja. La necrosis alcanza el peciolo provocando el secado de la hoja. Las manchas foliares inician en las hojas inferiores y avanzan a las hojas superiores, provocando defoliación total. Después de la defoliación, la necrosis continúa a las ramas sobre las cuales se presentaban pequeños cuerpos de color marrón oscuro y concluye con la muerte de las plantas en etapa de producción. Estos síntomas no corresponden a los descritos para hongos que causan manchado de cálices en *H. sabdariffa* en México (Hernández-Morales, comunicación personal); por esta razón, la presente investigación tuvo como objetivo determinar el agente involucrado en la 'mancha acuosa' de la jamaica en Tabasco, México.

Mediante postulados de Koch, morfología de la colonia y secuenciación de ADN se determinó el agente causal. Las hojas de las plantas inoculadas reprodujeron los síntomas de la enfermedad 36 h después de la inoculación por heridas. Los aislamientos obtenidos a partir de hojas sintomáticas produjeron, en medio PDA, colonias color blanquecino a grisáceo sobre la superficie y color miel al reverso de la caja Petri. Después de siete días se cubrió completamente la superficie de la caja e inició la producción de picnidios, inicialmente hialinos los cuales posteriormente se tornaron color marrón oscuro. Los picnidios fueron de forma globosa a subglobosa con ostiolas circulares centrales con medidas de 200 a 300 μm de largo, lisos, inicialmente hialinos, tornándose posteriormente café oscuro, con una masa oscura de conidios centrales. Conidióforos densos, delgados, simples o ramificados. Conidios hialinos cuando son inmaduros, llegando a ser marrón claro, inequilaterales, lisos, elipsoidales, rectos a ligeramente curvados, de 10-16.2 x 5-7 μm . Las características encontradas coinciden con lo descrito por Barnett y Hunter (1998) para el género *Phoma*. La amplificación y secuenciación del gen ITS DNAr fue realizada empleando los iniciadores universales ITS1-5' TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3', e ITS4-5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'. La secuencia obtenida, respecto a las secuencias de especies depositadas en el Banco de Genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI), obtuvo un 99% de similitud con *Pilidiella diplodiella* con número de acceso Ay339331. De acuerdo con Van Niekerk *et al.* (2004), *P. diplodiella* es sinónimo de *Phoma diplodiella*, *Coniothyrium diplodiella* y *Coniella diplodiella*. Se ha reportado en *Vitis vinifera*, *Rosa* sp., *Anogeisus latifolia*, *Geranium* sp., en la India (Singh y Sinch, 1966), y *Pisum sativum* en Australia (Sheemali, 1973). En América, *P. diplodiella* se reportó como *Phoma diplodiella* en 1887 en el suroeste de Missouri (Ponti *et al.*, 2003) y en *Citrus aurantifolia* en México (McGuire y Grandall, 1967). Se concluye que el agente causal corresponde al hongo *Pilidiella diplodiella*, por lo que este

the cuticle of the leaf. When the necrosis reaches the petiole, it causes the drying of the leaf. The leaf spots begin on the lower leaves and advance towards the upper foliage, causing total defoliation. After defoliation, necrosis continues to the branches on which small, dark brown bodies were present and conclude with the death of the plants in the production stage. These symptoms do not correspond to those described for fungi that cause *H. sabdariffa* calix spots in Mexico (Hernández-Morales, personal communication); for this reason, this research sought to identify the agent involved in the watery spot of roselle in Tabasco, Mexico.

Through Koch's postulates, colony morphology and DNA sequencing the causal agent was identified. The leaves of inoculated plants reproduced symptoms of the disease 36 h after inoculation on wounds. The isolates obtained from symptomatic leaves produced, in PDA medium, white to grayish colored colonies on the surface and honey-colored on the back of the Petri dish. After seven days, the surface of the dish was completely covered and the production of pycnidia started, initially hyaline which later became dark brown colored. The pycnidia were globose to subglobose shaped with circular central ostioles measuring from 200 to 300 μm long, smooth, initially hyaline, later turning dark brown, with a dark mass of central conidia. Dense, thin, simple or branched conidiophores. Hyaline conidia when immature, reaching a light brown color, inequilateral, smooth, ellipsoidal, straight to lightly curved, from 10-16.2 x 5-7 μm . The characteristics found are consistent with those described by Barnett and Hunter (1998) for the *Phoma* genus. The amplification and sequencing of the ITS DNAr gene was performed using the universal primers ITS1-5' TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3', and ITS4-5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'. The obtained sequence, according to the sequences of species deposited in the National Center for Biotechnology Information's (NCBI) GenBank, obtained a 99% similarity with *Pilidiella diplodiella* with accession number Ay339331. According to Van Nekerck *et al.* (2004), *P. diplodiella* is a synonym for *Phoma diplodiella*, *Coniothyrium diplodiella* and *Coniella diplodiella*. It has been reported in *Vitis vinifera*, *Rosa* sp., *Anogeisus latifolia*, *Geranium* sp., in India (Singh and Sinch, 1966), and in *Pisum sativum* in Australia (Sheemali, 1973). In America, *P. diplodiella* was reported as *Phoma diplodiella* in 1887 in Southeast Missouri (Ponti *et al.*, 2003) and in *Citrus aurantifolia* in Mexico (McGuire and Grandall, 1967). It is concluded that the causal agent corresponds to the fungi *Pilidiella diplodiella* therefore this work is the first report of the pathogen as a causal agent of a disease in a roselle crop, which in the present study has been named 'watery spot' due to the watery appearance during one of its stages of development.

LITERATURA CITADA

- Ahmed MM. 2007. The effect of feeding rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed on broiler chick's performance. Journal of Animal and Veterinary Sciences 2:21-23.

trabajo es el primer reporte del patógeno como agente causal de una enfermedad en el cultivo de jamaica, que en el presente estudio se la ha denominado 'mancha acuosa' debido a que los tejidos invadidos presentan esta apariencia en unas de sus etapas de desarrollo.

Barnett HL and Hunter BB. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th edition. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA. 218p.

McGuire Jr JU and Crandall BS. 1967. Survey of insect pests and plant diseases of selected food crops of Mexico, Central America and Panama. International Agricultural Development Service. USDA, AID, Washington, D.C., USA, 157p.

Ponti I, Pollini A and Laffi F. 2003. Vite. Third edition Verona, Italia. 178p.

Singh DP and Sinch RS. 1966. Occurrence of *Coniella diploidiella* (Speg.) Petrak and Sydow on *Geranium* sp. Science and Culture 32:504.

Sheemali PG. 1973. A new disease of *Artabotrys hexapetalous*. Indian Phytopathology 26:605-607.

Van Niekerk JM, Groenewald JZ, Verkley GJM, Fourie PH, Wingfield MJ and Crous PW. 2004. Systematic reappraisal of *Coniella* and *Pilidiella*, with specific reference to species occurring on *Eucalyptus* and *Vitis* in south Africa. The British Mycological Society, Mycological Research 108:283-303.