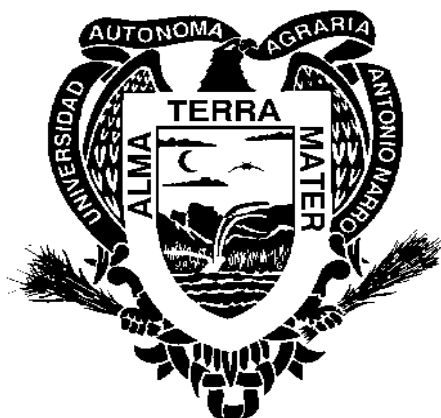


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**  
**ANTONIO NARRO**  
**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**  
**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



**Interacción de *Phytophthora parasitica* Dastur y *Fusarium oxysporum* Schlechtend en el cultivo de la jamaica *Hibiscus sabdariffa* L.**

**Por:**

**YANSI KARINA RAMOS GRAJALES**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.**

**Noviembre 2011**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Interacción de *Phytophthora parasitica* Dastur y *Fusarium oxysporum* Schlechtend en el cultivo de la jamaica *Hibiscus sabdariffa* L.

Por:


YANSI KARINA RAMOS GRAJALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

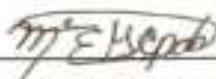
APROBADA





M.C. Abiel Sánchez Arizpe  
Asesor Principal



Dr. Javier Hernández Morales  
Coasesor



M.C. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda  
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía  
Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.  
Noviembre 2011

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios**, por darme la fuerza de luchar día a día para poder superarme y salir adelante por permitir a ver llegado a este mundo y conocer todas las cosas buenas y malas que están en mi entorno y principalmente por darme la gracia de haber terminado una de mis tantas metas.

**A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por la oportunidad que me brindo al aceptarme como una más de sus estudiantes y culminar así mis estudios de nivel licenciatura.

**Al Colegio de Postgraduados**, en especial al programa de fitopatología por haberme prestado las instalaciones de laboratorio para llevar acabo mi trabajo.

**Dr. Javier Hernández Morales**, Por su apoyo incondicional en todo momento y por la disponibilidad para realizar este trabajo pero sobre todo, por su gran amistad y consejos brindados.

**MC. Victoria Ayala Escobar**, por el apoyo incondicional brindado en los trabajos de laboratorio, así como por su amable atención en la revisión de este documento.

**M.C. Abiel Sánchez Arizpe**, por su disposición al ser asesor principal de este trabajo; por el tiempo brindado para la revisión. Por la transmisión del conocimiento, primordial en mi formación profesional.

**Ma. Elizabeth Galindo Cepeda**, por su disponibilidad y tiempo para asesorarme y por su valiosa aportación y revisión del presente trabajo.

**A todos los profesores del Departamento de Parasitología (UAAAN),** por la enseñanza brindada y todas aquellas experiencias obtenidas.

**A la Laboratorista del IFIT (Carmen Galicia Jiménez)** por las aportaciones en las prácticas de laboratorio y facilitarme algunos materiales y principalmente por la amistad brindada durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

**A mis compañeros y amigos:**

A mis compañeros de Generación de la carrera de Ing. Agrónomo Parasitólogo en especial a María Elena, Beimar, Sergio, y , por la grata convivencia que siempre mantuvimos durante nuestra estancia en la universidad y aquellos amigos que fui conociendo durante mi formación profesional en especial Paty.

**A José Luís García Franco:** por su inigualable amistad durante y después de la carrera, además por su aportación de revisión de ortografía en mi trabajo. Gracias JL.

**Al M.C. José Manuel Salaya:** por su amistad así como también en la participación de revisión de tesis.

## DEDICATORIA

**A mis padres:**

*Emiliano Ramos Pereyra*

*y*

*María del Rosario Grajales Vázquez*

A ellos que me dieron la vida y haber luchado desde el momento en que nací para poder formarme, sobre todo por el gran esfuerzo de sacarme adelante muchas gracias que Dios los bendiga.

**A mis hermanos:**

**Yaneth, Wilber, Fabricio y Eduardo.**

Por todo lo que hemos compartido juntos, por su cariño, comprensión y apoyo incondicional y porque son una de las razones de mi superación.

**A mi hija Erika:**

Por ser un motivo tan importante para superarme día con día y por tanta felicidad desde el momento de su llegada a mi vida, **“Te amo bebe”**

**A mi esposo:**

**Erick Morales González**

Con mucho amor, por todos los bellos momentos que hemos compartido juntos y por su gran paciencia para conmigo; por haberme acompañado la mayor parte de mi carrera, por su

comprensión, consejos y apoyo incondicional; por hacerme sentir bien y compartir su tiempo conmigo.

A mis abuelos, tíos, primos y familiares, que de alguna manera me dan su apoyo para seguir adelante.

**A mis suegros:**

**Benjamín y Bertha:** Por todo el apoyo emocional y económico que me brindaron para finalizar mi carrera.

**A la familia Rodríguez García:** por su amistad durante estuve en Montecillos.

*A todas aquellas personas que seme escapen de la mente en este momento.*

Esta investigación estuvo parcialmente financiada por el proyecto: **“Desarrollo del paquete tecnológico integral para la producción de jamaica inocua en Guerreo”**, como parte del subproyecto **“Diagnóstico y manejo de problemas fitosanitarios en el cultivo de la jamaica y evaluación de contaminantes microbiológicos”**, bajo un convenio de colaboración celebrado entre el INIFAP y el Colegio de Postgraduados.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Páginas</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> -----	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> -----	<b>v</b>
<b>RESUMEN</b> -----	<b>vi</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> -----	<b>1</b>
Objetivo-----	2
Hipótesis-----	2
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> -----	<b>3</b>
Características generales de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.-----	3
Antecedentes-----	3
Ubicación taxonómica-----	3
Descripción botánica-----	4
Requerimientos climáticos del cultivo-----	5
Importancia del cultivo en México-----	5
Aspectos fitosanitarios del cultivo de la jamaica-----	7
Características Generales de <i>Phytophthora parasitica</i> Dastur-----	8
Importancia-----	8



Ubicación Taxonómica-----	9
Biología-----	9
Características Generales de <i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtend-----	11
Importancia-----	11
Ubicación Taxonómica-----	12
Biología-----	11
Interacción de patógenos -----	13
<b>MATERIALES Y MÉTODOS-----</b>	<b>15</b>
Colecta de planta enfermas -----	15
Aislamiento y purificación de los organismos a partir de las plantas colectadas en campo -----	16
Identificación de los organismos aislados -----	16
Incremento del inóculo -----	17
Establecimiento del experimento para la evaluación de la patogenicidad -----	18
Desarrollo de plantas de jamaica en cámara de ambiente controlado -----	19
Inoculación -----	19
Variables evaluadas -----	20
Determinación de la incidencia-----	20
Diseño experimental y Análisis Estadísticos -----	21

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	22
Identificación y Aislamiento de los organismos aislados	22
<i>Phytophthora parasitica</i> Dastur	22
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtend	24
Pruebas de patogenicidad	25
Interacción de <i>P. parasitica</i> Dastur y <i>F. oxysporum</i> Schlechtend	26
Efectos de los tratamientos	27
Plantas inoculadas con <i>P. parasitica</i> Dastur	27
Plantas inoculadas con <i>F. oxysporum</i> Schlechtend	28
Plantas inoculadas con <i>P. parasitica</i> Dastur y <i>F. oxysporum</i> Schlechtend	28
Plantas inoculadas con <i>P. parasitica</i> Dastur + <i>F. oxysporum</i> Schlechtend	29
Plantas inoculadas con <i>F. oxysporum</i> Schlechtend + <i>P. parasitica</i> Dastur	29
Plantas Testigo	30
Incidencia	31
Reaislamiento de <i>P. parasitica</i> Dastur y <i>F. oxysporum</i> Schlechtend	32
<b>CONCLUSIONES</b>	33
<b>LITERATURA CITADA</b>	34
<b>ANEXOS</b>	40

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Sitios de colecta del material enfermo (Ciclo otoño-invierno 2009).	15
2	Concentración de zoosporas y conidios por mL.	18
3	Tratamientos evaluados.	18
4	Microorganismos identificados.	22
5	Prueba de comparación de medias Tukey en el avance final de <i>P. parasitica</i> y <i>F. oxysporum</i> .	26
6	Incidencia de cada tratamiento.	31
7	Avance se la enfermedad en días y promedio de este e incidencia en cada uno de los tratamientos.	40
8	Análisis de varianza del avance final de la enfermedad del cultivo de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ).	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Desarrollo de colonia de <i>P. parasitica</i> en V8 agar.	23
2	Esporangio de <i>P. parasitica</i> .	23
3	Desarrollo de cultivo de <i>F. oxysporum</i> en PDA.	24
4	Micro y macroconidios de <i>F. oxysporum</i> (derecha) clamidosporas.	25
5	Síntomas causados por <i>P. parasitica</i> .	28
6	Síntomas causados por <i>F. oxysporum</i> .	28
7	Síntomas causados por <i>P. parasitica</i> y <i>F. oxysporum</i> .	29
8	Síntomas causados por <i>P. parasitica</i> + <i>F. oxysporum</i> .	29
9	Síntomas causados por <i>F. oxysporum</i> + <i>P. parasitica</i> .	30
10	Plantas Testigo.	30

## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la interacción de *P. parasitica* y *F. oxysporum* en el cultivo de la jamaica (*H.sabdariffa*). Los patógenos se obtuvieron de plantas enfermas colectadas en el estado de Guerrero, posteriormente se aislaron y purificaron utilizando como medios PDA, V8 y Agar Agua.

Para estudios de la interacción, la inoculación de *P. parasitica* se hizo con una concentración de 30,000 esporas por mL con una densidad del inóculo de 36 mL por planta, y *F. oxysporum* de 500,000 conidios por mL con densidad de inóculo 40 mL por planta y la mezcla de los dos hongos a la misma concentración. Las variables consideradas para la evaluación fueron: días a aparición de los primeros síntomas de la enfermedad, avance y desarrollo final de la lesión, incidencia, siendo esto el número de plantas totales de la población afectadas por la enfermedad expresada en porciento.

Se llevó a cabo la inoculación con una suspensión de conidios de *F. oxysporum* y zoosporas de *P. parasitica* que se vertieron en la base del tallo de las plantas de jamaica de 90 días de edad desarrolladas en la cámara de ambiente controlado, usando una probeta graduada y esterilizada.

Se realizaron pruebas de patogenicidad con plantas de jamaica cultivadas en cámara de ambiente controlado, esto con la finalidad de que la temperatura no fuera una limitante para el desarrollo de la enfermedad.

Se encontró diferencias entre tratamientos pero no interacción entre los patógenos debido a que estas solo fueron entre *P. parasitica* y *F. oxysporum*, no entre las combinaciones. Los tratamientos en que se usaron ambos patógenos tuvieron los mismos niveles de daño que *P. parasitica* por lo que este patógeno no se vio beneficiado por *F. oxysporum* para incrementar la patogenicidad. Se concluye que *P. parasitica* y *F. oxysporum* no interactuar para producir la enfermedad, es decir, que cada uno es capaz de p. infección por sí mismo.

**Palabras clave:** patogenicidad, patógenos, incidencia.

## INTRODUCCIÓN

La jamaica (*H. sabdariffa* L.) es una planta originaria de la India que fue propagada a zonas tropicales y subtropicales de ambos hemisferios. En México, fue introducida por los españoles a principios del siglo XVII y a finales del siglo XVIII, se cultiva en regiones tropicales cálidas y semicálidas (Rojas, 1999). Han surgido zonas productoras importantes por su producción orgánica para el mercado internacional, como Veracruz y Oaxaca, de igual forma en los estados de Campeche y Chiapas se ha iniciado un proceso de reconversión productiva para la jamaica (Rojas, 2004).

Este cultivo, cada día está tomando mayor importancia por productores y consumidores debido a sus diversos usos en la cocina, repostería, industria y fabricas textiles, utilizando el cáliz para elaborar aguas frescas, gelatinas, jaleas, mermeladas, ponche, refrescos, licores, entre otros. Las hojas y tallos se consumen en forma de ensaladas, además se usa como abono para las plantas, proporcionándole nutrientes al suelo y las semillas se han utilizado como sustituto afrodisíaco del café (Watt y Breyer-Brandwijk, 1962). A esta planta también se le han atribuido muchas propiedades medicinales como para controlar el peso, abscesos biliares, fiebre, hipertensión, resfriados y tos (García, 1995).

Guerrero se considera el principal estado productor de jamaica en el cual se siembra una superficie de 14 711 t/ha (SAGARPA, 2011). Para la mayoría de los productores de jamaica la venta de cálices es su principal fuente de ingreso razón por la cual alcanza gran importancia económica.

En cuanto a los problemas fitosanitarios del cultivo, se destacan las enfermedades fungosas de la parte aérea como es la cenicilla (*Oidium* spp.). En la raíz se han encontrado enfermedades causadas por *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y el oomyceto *Phytophthora parasitica*. Particularmente esta última enfermedad, es conocida localmente como “pata prieta” se caracteriza por una pudrición a la altura del cuello de la planta que invade parte de las raíces y avanza hacia la parte superior del tallo, lo que produce que la

planta presente flacidez, hojas amarillentas y caída prematura y posteriormente la muerte. Siendo el principal problema fitosanitario que enfrenta este cultivo ya que conforme pasan los años se incrementa la superficie afectada por este patógeno y al cual también se le ha asociado a *F. oxysporum* al producir algunos síntomas similares. (Escalante, 1992).

### **Objetivo**

Determinar si existe o no interacción entre los patógenos *F. oxysporum*, y *P. parasitica* como agentes causales de la enfermedad de la “pata prieta” de la jamaica.

### **Hipótesis**

**Ho:** No existe diferencias entre los patógenos *P. parasitica* y *F. oxysporum* como agentes causales de la enfermedad de la “pata prieta” de la jamaica.

**Ho:** No existe interacción entre los patógenos *P. parasitica* y *F. oxysporum* como agentes causales de la enfermedad de la “pata prieta” de la jamaica.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Características Generales de *Hibiscus sabdariffa* L.

#### Antecedentes

El origen de la jamaica (*H. sabdariffa* L.) aun no ha sido definida con exactitud, sin embargo, Patiño (1975) mencionó que es originaria de la India, mientras que Rendón (1992) citó que es endémica de África. Es conocida también como; serent, aleluya, flor de jamaica, agría de Guinea y roselle (Patiño, 1975).

**Ubicación taxonómica.-** Cronquis (1981) la clasifica de la siguiente manera.

**División** – Magnoliophyta

**Clase** – Magnoliopsida

**Subclase** – Dilleniidae

**Orden** – Malvales

**Familia** – Malvaceae

**Género** – *Hibiscus*

**Especie** – *H. sabdariffa* L.



## Descripción botánica

La planta de la jamaica es hermafrodita, anual o bianual, herbácea de 0.5 a 3.0 m de altura; tallos robustos y con frecuencia leñosa en la parte de la base, de color morado a roja brillante (Rojas, 1999).

Hojas simples, alternas, ovaladas o lanceoladas-oblongas, compuesta de 3 a 5 lóbulos, siendo el central el más largo, ápice truncado hasta cuneado, con márgenes dentados de color verde en ambos lados; el envés con una glándula característica en la base, con peciolo largo; estípulas deciduas (Rendón, 1992).

Flores solitarias, axilares, perfectas, zigomorfas; epicáliz con más de 10 brácteas pequeñas, delgadas, fusionadas en la parte de la base con el tubo del cáliz. La corola con los pétalos adheridos al tubo estaminal recto; pétalos de color amarillo pálido, con centro de color oscuro cuando el tallo es rojo y un centro amarillo para la forma de tallo verde, ovados, carnosos en su base; la columna estaminal formada por 5 grupos de estambres unidos casi desde la base, de color morado; estilo delgado, con un estigma de 5 lóbulos, rodeado por los estambres, excediendo al androceo; ovario súpero con placentación axial (Rendón, 1992).

Cáliz profundo de forma regular, de 1.2 a 4 cm de largo, de consistencia carnosa después de la antesis y su nervadura central pronunciada presentando una glándula característica en la base de cada lóbulo, pubescencia fina en el interior de los lóbulos; el epicáliz y el cáliz pueden ser de color rojo brillante, verde o casi blanco, esto dependerá de las variedades; pedúnculo corto (Rendón, 1992).

Frutos capsulares ovoide, obtuso, ligeramente pilosos, con numerosas semillas, dehiscencia loculicidal, abriéndose en cinco partes cuando ya se encuentra maduro, se puede encontrar de 3 a 4 semillas reniformes en cada celda (Omobuwajo *et al.*, 2000).

## **Requerimientos climáticos del cultivo**

**Luz y temperatura:** es una planta que se caracteriza por su adaptación en ambientes cálidos. La jamaica es susceptible al fotoperiodo corto (Luz, 2002). Para su crecimiento requiere un rango de temperatura que va de 21 a 25 °C con luz continua (Ocampo, 1990).

**Humedad:** según el Instituto Tecnológico de El Salvador reporta que la precipitación pluvial óptima es alrededor de 1500 mm, siendo la mínima de 1000 mm (Rojas, 1999).

**Nutrimientos:** Esta planta crece bien en distintas clases de suelos y aún con bajo contenido de nutrientes (baja fertilidad), pero los más indicados son los suelos francos, con fertilidad moderada, principalmente en nitrógeno para evitar que la planta crezca demasiado y nos produzca el mayor número de cálices, también este cultivo se ve favorecido al incorporar abonos verdes al suelo. Generalmente se le encuentra en terrenos de topografía ondulada o plana, ubicándose las plantaciones preferiblemente cerca de las viviendas (Ucan, 1993).

## **Importancia del cultivo en México**

El estado de Guerrero ha sido el principal productor de jamaica, así como el más constante (Rendón, 1992). Durante el 2006, en México se cultivaron 19 171 ha de jamaica de las cuales se obtuvieron 5 414 t/ha de producción (SIACON, 2006). Del año 2001 a 2005, el estado de Guerrero se ha mantenido como el mayor productor de jamaica en México. En el mismo año su volumen de producción se ha mantenido en aumento, una en 2002 con 2 481 t/ha y la otra en 2004 con 3 151 t/ha (Galicía, 2007).

En el 2001 Oaxaca, se presenta como el segundo productor, manteniendo su volumen de producción sin variaciones importantes con un promedio de 799 t/ha por año. El tercer productor es el estado de Michoacán, el cual ha mantenido un incremento constante pasando de 62 t/ha en 2001 hasta llegar a 311 t/ha en 2005. El cuarto productor importante es el estado

de Nayarit, manteniendo en promedio un volumen de producción de 128 t/ha por año. Con respecto a Campeche y Colima, sus volúmenes de producción no han rebasado las 100 t/ha por año. El caso de Veracruz en el año 2002 destacó entre los seis principales productores del país obteniendo 69 t/ha. Sinaloa, Tabasco, Morelos, Puebla, Jalisco, Tamaulipas, Quintana Roo y Yucatán, presentan bajo volumen de producción y su contribución es variable y poco relevante (Galicia, 2007).

Hasta hoy en día el mayor volumen de la producción se ofrece en el mercado nacional en forma de cálices deshidratados, los cuales se utilizan, en su mayor parte, como materia prima para la elaboración de bebidas refrescantes caseras y en menor medida para la elaboración de mermeladas, jaleas, y dulces regionales.

La jamaica y sus productos elaborados están entrando a los hábitos de consumo de las generaciones de mexicanos a partir de su sabor típico y sus propiedades terapéuticas o medicinales que actualmente se han investigado con amplitud y que abarcan propiedades diuréticas, digestivas, tratamiento de úlceras, problemas de riñón e hígado, control de hipertensión, actividad antioxidante, acción antibiótica y apto para consumo de diabéticos (Ames *et al.*, 1993; Tsai *et al.*, 2002; Ali-Baldreldin *et al.*, 2005; Navarro-García *et al.*, 2006 ).

En México, los altos costos de producción de la jamaica, derivados principalmente de las necesidades de mano de obra para la cosecha, limitan la capacidad del producto para competir en un mercado cada vez mayor a la importación de jamaica proveniente de Sudán y China (Larios-Romero, 2002).

La jamaica forma un cultivo intercalado con el maíz, es decir, en el mismo surco hay plantas de ambas especies en proporción 1:1. Menos común son las combinaciones de jamaica-ajonjolí, mango-maíz-jamaica, palma de coco-maíz-jamaica o jamaica sola. Generalmente las labores agrícolas o labores culturales se realizan en función de lo que demande el cultivo del maíz (Rendón 1992).

### Aspectos fitosanitarios del cultivo de la jamaica

Entre las principales plagas que se presentan en el cultivo de la jamaica se encuentra la hormiga arriera (*Atta* spp.), la cual se menciona como la que puede causar pérdidas importantes en plantaciones de jamaica. Los pulgones o mielecilla *Myzus persicae* Sulzer (Dunlap, 1945).

Pushpaveni *et al.*, (1973) señalan como plaga de la jamaica al piojo harinoso o cochinilla (*Maconellicoccus hirsutus* Green.) la cual es una plaga cuarentenaria para México, por lo que se encuentra bajo regulación oficial. Es una especie altamente polífaga, puede atacar a más de 200 especies de plantas, entre los que destacan cultivos de importancia económica como frutales, hortalizas, forestales y ornamentales. En México se le ha encontrado en tulipán (*Hibiscusrosa sinensis*), limón (*Citrus aurantiifolia*), naranja (*Citrus sinensis*), mango (*Mangifera indica*), guanábana (*Annona muricata*), (*Quercus* spp.), jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), achiote (*Bixa orellana*), entre otras. (SAGARPA, 2004). También se reportan coleópteros como *Lagryscyanea* Macl., *Rhyparida discopunctulata* Lea., y *Nisotra breweri* Jarv (Patiño, 1975).

La presencia de enfermedades en el cultivo de jamaica representa gran importancia económica, entre las cuales las de más importancia son las causadas por hongos, sin descartar las enfermedades que son originadas por otros tipos de microorganismos. En el follaje pueden presentarse manchas ocasionadas por *Phoma sabdariffae*, *Cercospora malayensis* y *Oidium* spp., principalmente durante el período cálido-húmedo (agosto y septiembre), con la presencia de puntos rodeados por un halo rojizo conocido como ojo de gallo. Tanto el follaje como los frutos son infectados por la cenicilla *Leveillula taurica* (Dunlap, 1945).

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., *Phymatotrichopsis omnivora*, *Sclerotium rolfsii* y *Phytophthora parasitica*; todas causando pudriciones en la base del tallo y raíz (Crane, 1943;

Westcott, 1971). De estas enfermedades la más severa es la producida por *P. parasitica* debido a que las anteriores generalmente son controladas por organismos antagónicos del suelo (Muller y Eek, citado por Crane, 1943). En estudios recientes también se han encontrado a *F. oxysporum* involucrado en la enfermedad “pata prieta” de la jamaica en el estado de Guerrero (González, 2008). De igual forma, Amusa *et al.*, (2001) reporta la presencia de *F. oxysporum* en aislamientos de suelo y residuos de esta misma planta.

Amusa *et al.*, (2005) menciona a *F. oxysporum* 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.

### **Características generales de *Phytophthora parasitica* Dastur**

Esta especie fue descrita por primera vez por Dastur en 1913, obtenida de plantas de ricino en la India (Romero, 1988).

Cook en 1939 (citado por Echemendia, 2001) definió a *P. parasitica* como el agente causal de la pudrición del pie y la gomosis en las plantaciones cítricas del país. Sin embargo, no fue hasta 1975 que Rodríguez y Cabrera mostraron la amplia distribución de *P. parasitica* en Cuba, afectando distintas especies y variedades de cítricos en las cuales provocaba lesiones de gomosis en el tronco y pudrición del pie y las raíces.

### **Importancia**

En México, Hernández (1985) y Hernández y Romero (1990) aislaron e identificaron a esta especie en plantas de jamaica procedentes del estado de Guerrero en donde causa la enfermedad conocida localmente como “pata prieta”; cuyos síntomas evidenciaron una

podrición basal negra, que gradualmente se une al tejido vivo, seguida de una clorosis, marchitez, caída prematura de las hojas y finalmente la muerte. González (2008) estimó una incidencia del 40% de pata prieta en parcelas cultivadas con jamaica. En otros países se han realizado estudios de esta enfermedad, como el de Olunloyo y Adeniji (1974) quienes observaron el comportamiento de tres aislamientos de *P. parasitica*, en plantas cultivadas en condiciones de invernadero. Stone y Alconero (1973) inocularon dos aislamientos de *P. parasitica* uno de Tailandia y otro de Puerto Rico en *H. sabdariffa*, y encontraron que esta última fue más patogénica.

**Ubicación Taxonómica.-** Alexopoulos *et al.* (1996).

**Reino:** Stramenopila

**Phylum:** Oomycota

**Clase:** Oomycetes

**Orden:** Peronosporales

**Familia:** Pythiaceae

**Género:** *Phytophthora*

**Especie:** *P. parasitica* Dastur

## **Biología**

Erwin y Ribeiro (1996) señalaron que en plantas de *H. sabdariffa* se conocen dos sitios de infección. Los síntomas inicialmente aparecen en la base del tallo o debajo de este; además desarrollan lesiones de color marrón sobre la raíz principal y raíces adventicias. En etapas avanzadas, todo el sistema radical llega a ser suave y húmedo. Una severa pudrición de la raíz ocasiona un marchitamiento general de la planta. Sobre el tallo, el patógeno ocasiona lesiones necróticas que gradualmente se unen para rodearlo. La infección progresa tanto hacia arriba como hacia abajo del tallo, finalmente hay un descortezamiento en la región del cuello.

En etapas avanzadas de la enfermedad, el tallo se raja en varios lugares y un exudado gomoso sale de las grietas. Las plantas afectadas se marchitan y se caen en épocas de viento. El desarrollo de la enfermedad se incrementa con temperaturas arriba de 20 °C y lluvias frecuentes (Erwin y Ribeiro, 1996).

En la reproducción asexual se forman esporangios ovales o con aspecto de limón. Producen zoosporas reniformes con dos flagelos y monoplanéticas, las cuales al quedar libres, nadan por poco tiempo y se enquistan para después germinar formando nuevos micelios. Otra forma de reproducción asexual puede ser por formación de clamidosporas, las cuales germinan por medio de varios tubos germinativos o formando esporangios (Alexopoulos *et al.*, 1996).

En la reproducción sexual intervienen anteridios y oogonios. Los anteridios pueden tener uno o varios núcleos, y el oogonio por lo común forma una sola oosfera, también con uno o varios núcleos dentro del oogonio, que está rodeada por periplasma. La fecundación se efectúa por cariogamia de núcleos femeninos y masculinos, después de la formación de los tubos de fertilización que envía el anteridio hacia las oosferas (Herrera y Ulloa, 1998).

La presencia de humedad y temperatura es fundamental para la formación de esporangios. En la mayoría de las especies los esporangios se producen más abundantemente en presencia de luz, aunque el efecto de la misma es muy variable, llegando a estimularla en algunos casos e inhibiéndola en otros (Agrios, 2005).

Las zoosporas son las estructuras primarias que causan una nueva infección de las raíces y se forman dentro del esporangio, para lo cual es necesario la presencia de agua libre. Estas esporas pueden nadar cortas distancias en el suelo con elevada humedad, así como también pueden ser transportadas grandes distancias en el agua de irrigación o por las lluvias. Además el oomycete también desarrolla clamidosporas, las cuales constituyen un órgano de conservación y supervivencia. Las clamidosporas pueden germinar dando lugar a numerosos tubos germinativos o a la producción de esporangios, lo cual dependerá de la cantidad de nutrientes presentes en el medio de cultivo (Herrera y Ulloa, 1998).

### **Características Generales de *Fusarium oxysporum* Schlechtend**

Es una de las más importantes especies del género *Fusarium*, debido a las pérdidas económicas que causa en los cultivos comerciales. Coloniza los conductos xilemáticos de la planta; bloquea los vasos, lo que determina la aparición de síntomas tales como manchas en las hojas, pudrición de raíces y de la base del tallo, cánceres de las plantas, muerte descendente, pudrición de frutos y marchitamientos vasculares (Agrios, 2005).

#### **Importancia**

Amusa *et al.*, (2001) mencionan que en Malasia se ha aislado esta especie a partir de residuos de plantas de jamaica infectadas y de suelo. Estos mismos autores identificaron a la especie como el agente causal de la marchitez vascular de la jamaica en el suroeste de Nigeria en 2005.

El género *F.oxysporum* comprende un grupo muy variado y de amplia difusión en el mundo esto se debe a la gran cantidad de hospederos.



**Ubicación Taxonómica.-** Alexopoulos *et al.* (1996).

**Reino:** Fungí

**Phylum:** Ascomycota

**Clase:** Deuteromycetos

**Orden:** Hypocreales

**Familia:** Nectriaceae

**Género:** *Fusarium*

**Especie:** *F. oxysporum* Schlechtend

### **Biología**

Agrios (2005) mencionó que *F. oxysporum* produce tres tipos de esporas asexuales: microconidia, macroconidia y clamidosporas. Las microconidias son de una o dos células y es el tipo de spora más abundante. Macroconidias formadas por tres a cinco células, curvadas en forma de media luna o canoa. Las clamidosporas, son esporas redondas de una o dos células y de paredes gruesas producidas sobre el micelio viejo o en los macroconidios.

*F. oxysporum* hiberna en el suelo o en restos de plantas en forma de esporas asexuales de pared gruesa denominadas clamidosporas, en los restos vegetales produce únicamente esporas asexuales, hiberna en el suelo o restos de plantas en forma de micelio (Agrios, 2005).

La enfermedad se inicia con el crecimiento de las hifas o la germinación de las clamidosporas presentes en tejidos muertos del hospedante, estimulados por los exudados secretados por las raíces de las plantas. Las hifas del hongo penetran directamente la epidermis de las raíces, pasan a la corteza y a la endodermis y entran a los vasos del xilema, también las hifas pueden penetrar a través de las heridas hechas en forma mecánica o por nematodos e insectos. Sin embargo, la penetración directa a través de las raíces es el método más común de penetración del patógeno (Biles y Martin, 1988).

Una vez dentro de la planta, el hongo se mueve hacia el tejido vascular por colonización intracelular a los vasos del xilema y los invade cuando están maduros (Nelson *et al.*, 1997). El patógeno coloniza por crecimiento del micelio o por medio de transporte pasivo de microconidios (Baayen, 1988). Este último contribuye a una colonización no uniforme, lo que puede hacer que el material de propagación aparentemente sano resulte afectado (Maat, 1987).

La temperatura óptima para el desarrollo del patógeno está entre 25 y 30°C, una temperatura mínima de 5°C y una temperatura máxima de 37°C (Fletcher y Martín, 1972).

Las plantas afectadas por este hongo, muestran marchitez completa en los brotes, lesiones necróticas sobre el tallo, comenzando desde la base del suelo hacia arriba afectando la mayoría de las ramas (Ploetz y Palmateer, 2007). Ocasiona daños en la raíz, dando como resultado un marchitamiento en la parte aérea de la planta, la alteración avanza hacia los bordes de las hojas y los síntomas avanzan al resto del follaje (Agrios, 2005).

### **Interacción de patógenos**

En México es muy escasa la información que se ha generado sobre las plagas y enfermedades que afectan a la jamaica.

En el suelo se presentan diversas interacciones entre los microorganismos, las cuales influyen sobre el comportamiento y la sobrevivencia de las especies (Lumsden *et al.*, 1987).

El reconocimiento, establecimiento y eficiencia de una asociación dependen de factores como: a) tipo de hongo (su tasa de crecimiento interior y exterior en la raíz), b) plantas hospedantes (como genotipo, exudados radicales y de raíces laterales) y c) los factores biofísicoquímicos del suelo (pH, humedad, textura, fertilidad, tipo de microorganismos) (Graham *et al.*, 1987).

Nigh (1973) señaló por primera vez en Auburn Alabama la asociación de nematodos agalladores con *Fusarium* spp. en el cultivo de algodón. Respecto a la interacción de nematodos con *Phytophthora* spp. se menciona que una infección combinada produce efectos parecidos a los que causan individualmente dichos organismos.

Hernández (1988) citó como ejemplo de interacción entre *P. parasitica* causante de la enfermedad conocida como pierna negra en tabaco y *Meloidogyne incógnita*, en donde la enfermedad fue más severa en plantas de tabaco atacadas por el nematodo, aunque eran resistentes al hongo.

En los Estados de Aguascalientes y Zacatecas se detectó la presencia individual y combinada de *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. y *Verticillium* spp., causando marchitez o ahogamiento de plantas de chile (Velásquez *et al.*, 2000).

Otros estudios (Rahim y Sharif, 1985) han mostrado que hongos como *F. oxysporum* var. *redolens* y *F. solani* pueden interactuar con *P. capsici* para producir la marchitez, adquiriendo especial importancia y aumentando la patogenicidad al coincidir dichos organismos.

El Oomiceto *P. capsici* Leo. y los hongos *R. solani* Kühn y *F. oxysporum* se han encontrado interactuando y causando pudrición de raíz y cuello en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y ocasionan pérdidas severas que afectan la calidad y cantidad de la producción del cultivo de jitomate (Mendoza, 1996).

González (2008) mencionó a *F. oxysporum* como causante de la “pata prieta” en plantas de jamaica, este es el primer reporte confirmado de la patogenicidad de *F. oxysporum* en jamaica e involucrados con *P. parasitica*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colecta de plantas enfermas

El trabajo experimental se llevó a cabo en el laboratorio e invernadero del Programa de Postgrado en Fitopatología del Colegio de Postgraduados ubicado en la Carretera México- Texcoco, Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

El material vegetal utilizado para el aislamiento de los patógenos, se colectó en localidades pertenecientes a los municipios de Tecoaapa y Ayutla de los Libres, Guerrero durante el ciclo otoño-invierno del año 2009, como se muestra en el cuadro 1.

**Cuadro 1.** Sitios de colecta del material enfermo (Ciclo otoño-invierno 2009).

Número de sitio	Municipio	Localidad	Sitio	msnm	Ubicación de la Localidad
1	Ayutla	Ayutla	El aserradero	386	16° 59' 0.61 "N 99° 56' 12.27 "O
2	Tecoanapa	Xalpatlahua	El puente	677	17° 00' 30.79 "N 99° 19' 08.96 "O
3	Tecoanapa	Tecoanapa	CBTA	430	16° 59' 33.79 "N 99° 16' 16.51 "O
4	Tecoanapa	Tecoanapa	San Juan	430	16° 59' 33.79 "N 99° 16' 16.51 "O

El tipo de muestreo fue dirigido, por lo tanto, solo se colectaron plantas que presentaron los síntomas característicos de la enfermedad; es decir, plantas con necrosamiento en la base del tallo y raíz, clorosis y marchitamiento. Las muestras fueron llevadas al laboratorio en bolsas de papel previamente etiquetadas, para su estudio.

### **Aislamiento y purificación de los organismos a partir de las plantas colectadas en campo**

En laboratorio, las plantas colectadas se lavaron con agua corriente de la llave para eliminar de tierra y posteriormente se hicieron pequeños cortes de raíz y tallo en la parte de avance de la enfermedad de aproximadamente 0.5 cm.

Los cortes que se obtuvieron se sumergieron en una solución de hipoclorito de Sodio al 1.5% durante 2 minutos en cajas Petri para desinfectarlos, después se enjuagaron en agua destilada estéril 3 veces, esto con la finalidad de eliminar residuos de hipoclorito de Sodio; enseguida se procedió a secar los cortes con toallas de papel absorbente previamente esterilizadas en las cuales se dejaron en reposo por 3 horas para después sembrarlos en los medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), Agar-Agua, y jugo de verduras V8-agar, en los cuales se sembraron cinco cortes en cada caja. Este último, recomendado para inducir la producción de esporangios de *P. parasitica* (Hine y Aragaki, citado por López, 1984).

A los cuatro días de siembra del tejido y con un desarrollo de las colonias de más o menos 1 cm, con el fin de tener cultivos puros, se transfirieron al medio de cultivo Agar-Agua pequeños fragmentos del desarrollo micelial, lo anterior con la finalidad de evitar el crecimiento de bacterias y otros posibles contaminantes. Cuando las colonias en este medio tenían un desarrollo de aproximadamente 0.5 cm, Utilizando la técnica de punta de hifa se transfirieron los organismos puros nuevamente a los medio de cultivo PDA Y V8 Agar. Estos aislados puros, se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio (20-22 °C).

### **Identificación de los organismos aislados**

La identificación de los microorganismos se llevó con las características morfológicas y biológicas propias de cada especie.

Para realizar la identificación morfológica, primero se prepararon montajes de los microorganismos. Cada montaje se realizó con una aguja estéril tomando una pequeña porción

del crecimiento del microorganismo, después se colocaron sobre una gota de lactofenol en un portaobjetos, y se cubrió con un cubreobjetos. Los montajes se observaron con la ayuda de un microscopio compuesto y se identificó con base en lo descrito por Dastur (1913), Waterhouse (1956), Tuset (1977) y Burges (1990).

### **Incremento del inóculo**

El incremento del inóculo se realizó transfiriendo pequeñas porciones de colonias de *P. parasitica* y *F. oxysporum* a cajas petri con medio de cultivo V8 y PDA respectivamente. Una semana después, cuando el desarrollo de los patógenos cubrió la superficie del medio de cultivo en las cajas petri; el método que se usó para la inoculación consistió en una suspensión de esporas que a continuación se describe:

Para la obtención del inóculo de *F. oxysporum* a cada caja se le agregó agua destilada estéril, y se realizó un ligero raspado del micelio con una aguja estéril, la suspensión resultante se vertió en matraces estériles etiquetados para cada aislamiento. Antes de realizar la inoculación, se tomó una alícuota de la suspensión de conidios los cuales fueron contabilizados en una cámara de Neubauer para conocer la densidad de inóculo.

Obtención del inóculo de *P. parasitica*: con la ayuda de un sacabocados se extrajeron rodajas del medio con crecimiento micelial y se colocaron 27 rodajas en cajas petri y se agregó agua destilada estéril hasta cubrirlas, esto con la finalidad de favorecer la formación de esporangios. Cuatro días después cuando se observó gran cantidad de éstos, las cajas se sometieron a un tratamiento de refrigeración a una temperatura de 4°C durante 25 minutos para inducir la liberación de zoosporas. Posteriormente se tomó una alícuota para el conteo de éstas en la cámara de Neubauer y así conocer la densidad de inóculo, misma que se muestra en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Concentración de zoosporas y conidios por mL.

<b>Organismo</b>	<b>Concentración de esporas por mL</b>	<b>Densidad del inóculo por plantas</b>
<i>P. parasitica</i>	30, 000	36 mL
<i>F. oxysporum</i>	500,000	40 mL
<i>P. parasitica</i> y <i>F. oxysporum</i>	30, 000 + 500,000	76 mL

### **Establecimiento del experimento para evaluación de la patogenicidad**

Con el fin de conocer la patogenicidad de los agentes aislados sobre plantas de jamaica, se evaluaron los tratamientos que se muestran en el cuadro 3.

**Cuadro 3.** Tratamientos evaluados.

<b>Número de tratamientos</b>	<b>Tratamientos</b>
1	<i>P. parasitica</i>
2	<i>F. oxysporum</i>
3	<i>P. parasitica</i> y <i>F. oxysporum</i>
4	<i>P. parasitica</i> + <i>F. oxysporum</i>
5	<i>F. oxysporum</i> + <i>P. parasitica</i>
6	Testigo

Los tratamientos que se mencionan en el cuadro anterior se describen de la siguiente manera: el tratamiento uno consistió en la inoculación de *P. parasitica*; el tratamiento dos fue la inoculación de *F. oxysporum*; el tratamiento tres consistió en la inoculación de *P. parasitica* y *F. oxysporum* al mismo tiempo; el tratamiento cuatro consistió en la inoculación de *P.*

*parasitica* y tres días después se inoculó *F. oxysporum* en las mismas plantas inoculadas previamente con el primer patógeno; tratamiento cinco fue la inoculación de *F. oxysporum* y tres días después se inoculó *P. parasitica* en las mismas plantas y el tratamiento seis (testigo) fueron plantas de jamaica sin inocular.

### **Desarrollo de plantas de jamaica en cámara de ambiente controlado**

El suelo utilizado se esterilizó en una olla de presión a 120°C por media hora. Con este suelo se llenaron macetas con capacidad 1 L, en cada una de las cuales se sembraron siete semillas de jamaica, bajo condiciones de ambiente controlado a una temperatura de 27°C durante el día y 18°C en la noche, con un periodo de luz / oscuridad de 12 horas. Tres semanas después se eliminaron plantas dejando solamente una por maceta.

### **Inoculación**

Se llevó a cabo la inoculación de *F. oxysporum* con una suspensión de conidios que se vertió en la base del tallo de las plantas de jamaica de 90 días de edad desarrolladas en la cámara de ambiente controlado, se utilizó una probeta graduada y esterilizada. La inoculación de *P. parasitica* se realizó al depositar en la base del tallo suspensión de las zoosporas.

Una vez realizada la inoculación las plantas se observaron diariamente con la finalidad de registrar los días en que aparecieran los primeros síntomas así como el desarrollo de estos.

Cuando se consideró que el daño de las plantas infectadas era irreversible es decir que los síntomas de marchitez eran muy notorios, se retiraron las macetas de la cámara de ambiente controlado y se llevaron al laboratorio para realizar el reaislamiento de los patógenos se utilizó la misma técnica que se llevó a cabo con plantas procedentes de campo.



### **Variables evaluadas**

- ❖ Días de aparición de los primeros síntomas.

Este dato se consideró desde el momento de la inoculación hasta la aparición de los primeros síntomas.

- ❖ Avance y desarrollo final de la lesión.

Para registrar este dato se midieron con una regla graduada en cm, el tamaño final de las lesiones en cada planta.

- ❖ Incidencia.

Es necesario señalar que en el presente estudio no se evaluó el progreso de la enfermedad, sino la incidencia final, lo que permitió conocer el daño que causa en términos de porcentaje, ya que en este caso la incidencia y la severidad son iguales en virtud de que las plantas infectadas mueren.

### **Determinación de la incidencia**

Se calculó, la proporción en (%) de plantas enfermas respecto al total de plantas presentes en cada una de las unidades, se empleó la fórmula descrita por Campbell y Madden (1990).

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

### **Diseño experimental y Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones, cada unidad experimental consistió de una planta de jamaica. Para el análisis de datos y obtención del análisis de varianza y prueba de comparación de medias, se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2011). Cabe mencionar que el análisis de varianza se hizo con el avance final de la enfermedad (en cm) para determinar cuál de los tratamientos probados fue el que mayor incidencia de daño provocó.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación y Aislamiento de los organismos aislados

Con base en la metodología descrita en el capítulo anterior, se obtuvieron 11 aislamientos (Cuadro 4), y se identificaron a los siguientes microorganismos:

**Cuadro 4.** Microorganismos identificados.

Muestra	Nombre del sitio	Microorganismo identificado
1	CBTA	<i>P. parasitica, F. oxysporum</i>
2	El Aserradero	<i>P. parasitica, F. oxysporum</i>
3	El Puente	<i>P. parasitica, F. oxysporum</i>
4	San Juan	<i>P. parasitica, F. oxysporum</i>

#### *Phytophthora parasitica* Dastur

De plantas colectadas en todos los sitios se obtuvo aislamiento de micelio hialino y cenocítico, el cual se identificó como *P. parasitica*.

Las cepas aisladas, se hicieron crecer en medios de cultivos V8, las cuales presentaron las siguientes características: cepas color hialino, micelio cenocítico, denso, de crecimiento algodonoso en parte aérea, presentó un crecimiento radial (Figura 1). Esporangióforos no diferenciados normalmente de las hifas.



**Figura 1.** Desarrollo de colonia de *P. parasitica* en V8 agar.

El esporangio fue incoloro, globoso a subgloboso, limoniforme, insertado terminalmente en el esporangióforo y papilado en el ápice.

Temperaturas cardinales: mínima 10 °C, óptima de 30 a 32 °C y máxima de 37 °C (Romero, 1988).



**Figura 2.** Esporangio de *P. parasitica*.

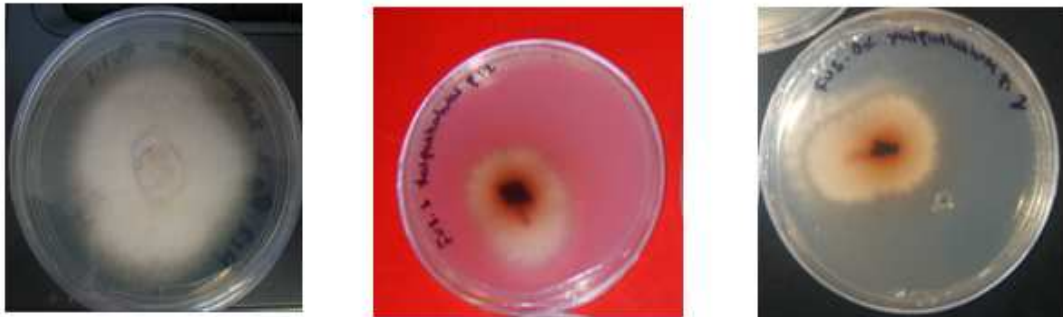
No se realizó la prueba de compatibilidad de aislamientos para la obtención de oosporas, aunque se menciona que esta especie es heterotálica por lo cual se necesitan cepas compatibles para la producción de órganos de reproducción sexual (Waterhouse, 1956).

Los resultados de las observaciones morfológicas para esta especie, coinciden con las características descritas por Frezzi, (1950), Waterhouse (1956) y Erwin y Ribeiro, (1996), para *P. parasitica*.

### *Fusarium oxysporum* Schlechtend

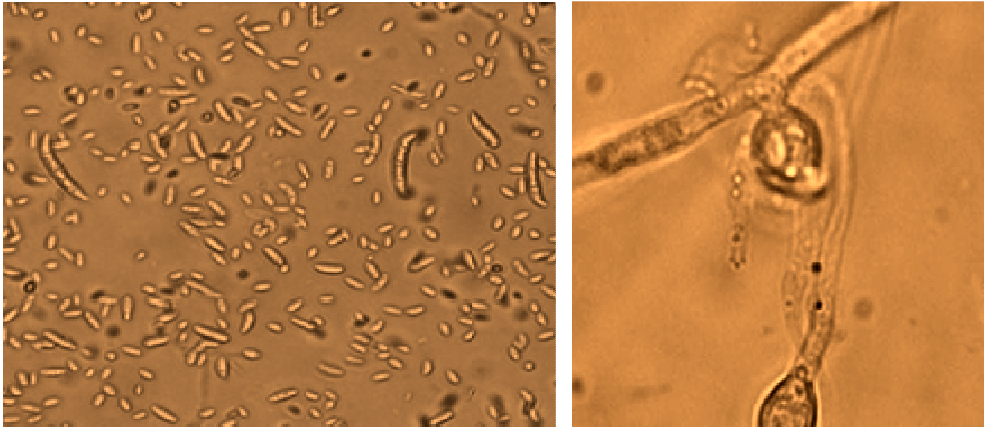
De las muestras colectadas también se aisló a un microorganismo con micelio blanco y septado, el cual se identificó como *F. oxysporum*, con base en las características morfológicas y biológicas que a continuación se describen.

Las cepas presentaron una apariencia de colores claros a color violeta (Figura 3). Esto coincide con Smith (1988) quien menciona que en medio de cultivo PDA, la apariencia del desarrollo micelial de las diferentes formas especiales de *F. oxysporum* puede variar. En general, el micelio aéreo, primero aparece blanco y después puede cambiar a una gama de colores que va de violeta a púrpura oscuro. Si los esporodocios son abundantes el cultivo presenta una coloración crema o naranja.



**Figura 3.** Desarrollo de cultivo de *F. oxysporum* en PDA.

*F. oxysporum* desarrolló tres tipos de estructuras (Figura 4): microconidios en forma oval, cilíndricos, rectos o ligeramente curvos con una a dos células, ovales, hialinos. Macroconidios con tres a cinco septos que los dividen, ligeramente puntiagudos y curvados hacia los extremos en forma típica de canoa clamidosporas que están constituidas por una o dos células, de pared gruesa y de forma globosa, se forman separadamente o en pares, en forma terminal o intercaladamente en el micelio más viejo o en los macroconidios del hongo.



**Figura 4.** Micro y macroconidios de *F. oxysporum*, (derecha) clamidosporas.

Estas características coinciden con las descritas por Agrios (2005), quien señalo que *F. oxysporum* produce tres tipos de esporas asexuales: microconidios, macroconidios y clamidosporas.

También se aislaron otros géneros de hongos como *R. solani* y *Phomopsis*. sp. que en las pruebas realizadas en este estudio no mostraron patogenicidad en plantas inoculadas; por lo que no se abordaron con mayor amplitud en este trabajo. Sin embargo, es recomendable investigar la relación de estos microorganismos con el cultivo de jamaica.

### **Pruebas de patogenicidad**

Con base al análisis de varianza se encontró diferencias altamente significativos entre los tratamientos ( $Pr \geq 0.0001$ ), por lo tanto se rechaza las dos hipótesis nula planteadas en el presente trabajo; es decir, por lo menos uno de los tratamientos es diferente de otro, en cuanto al avance final de la enfermedad de la pata prieta de la jamaica.

Con base a la prueba de comparación de medias podemos observar que el tratamiento donde se inoculó a *F. oxysporum* fue estadísticamente diferente a todos los demás

tratamientos, con un promedio de avance final de la enfermedad de 2.0 cm menor en comparación con 9.9 a 12.88 cm de los demás tratamientos (Cuadro 5). Es importante mencionar que el promedio de avance de la enfermedad en el tratamiento 2 fue poco debido a que la parte infectada únicamente se presentó en la raíz.

**Cuadro 5.** Prueba de comparación de medias Tukey en el avance final de *P.parasitica* y *F.oxysporum*.

TRA	N	Media del avance final de la enfermedad (cm)	Agrupación Tukey
5	5	12.88	A
3	5	10.88	A
4	5	10.26	A
1	5	9.90	A
2	5	2.20	B

TRA= Tratamientos, N= Número de plantas por tratamiento.

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

#### **Interacción de *P. parasitica* Dastur y *F. oxysporum* Schlechtend**

La existencia de diferencias entre tratamientos y el rechazo de la segunda hipótesis nula planteada en este trabajo, no significa que haya interacción entre los patógenos debido a que estas solo fueron entre *P. parasitica* y *F. oxysporum* y no entre las combinaciones. Los tratamientos en que se usaron ambos patógenos tuvieron los mismos niveles de daño que *P. parasitica* (tratamiento 1) por lo que esta no se vio beneficiada por *F. oxysporum* para aumentar la patogenicidad.

Como se comentó anteriormente, y de manera biológica se observó que no hubo tal interacción, debido a que cuando se realizaron las pruebas de patogenicidad y se reaislaron los patógenos de las plantas inoculadas se notó claramente que *F. oxysporum* y *P. parasitica* actuaron de manera independiente para enfermar a las plantas en cada uno de los tratamientos; encontrándose a *F. oxysporum* únicamente en la raíz y *P. parasitica* en el tallo, estos resultados coinciden con lo que menciona González (2008) donde afirmó que tanto *P.*

*parasitica* como *F. oxysporum* se encuentran involucrados en la enfermedad “pata prieta” de la jamaica pero no se considera que haya un sinergismo entre ellos para ocasionar la enfermedad en estudio

De acuerdo a los resultados mostrados anteriormente se puede decir que no hubo una interacción entre los patógenos evaluados, ya que en cada uno de los tratamientos se notaron resultados importantes mostrando a *P. parasitica* como el principal causante de la enfermedad y *F. oxysporum* causando daño pero de menor proporción. En laboratorio, al hacer los reaislamientos, en todos los tratamientos se reaisló a *P. parasitica* y a *F. oxysporum* en forma separada y en la mayoría de los casos al primer patógeno se reaisló del tallo, mientras que *F. oxysporum* se reaisló de raíces.

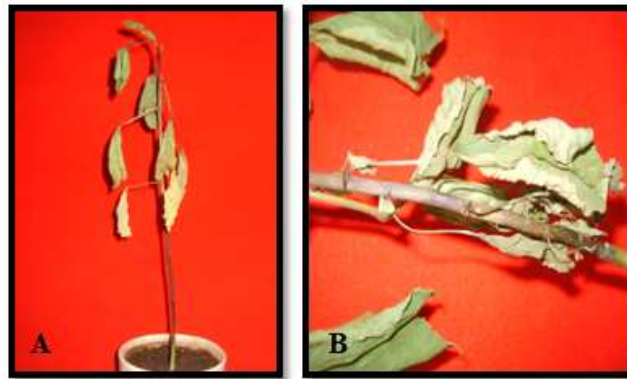
Cuando se inocularon los dos patógenos al mismo tiempo se esperaba que se incrementara el nivel de daño y que este apareciera en menos tiempo que cuando se inocularon de manera separada. Sin embargo, no se incrementó el daño así como tampoco se redujo el tiempo de aparición de síntomas, por lo que se considera que no existe interacción de estos patógenos en la patogénesis.

## **Efectos de los tratamientos**

### **Plantas inoculadas con *P. parasitica* Dastur**

Después de tres días de la inoculación de las plantas con *P. parasitica*, los primeros síntomas observados fueron: Flacidez de la planta en general (Figura 5 A), Necrosis y adelgazamiento en la base del tallo, y conforme pasaron los días los síntomas fueron más visibles notando claramente la infección y muerte de plantas por dicho patógeno (Figura 5 B).

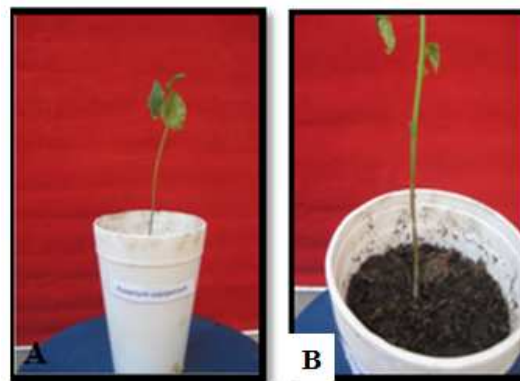




**Figura 5.** Síntomas causados por *P. parasitica*.

#### **Plantas inoculadas con *F. oxysporum* Schlechtend**

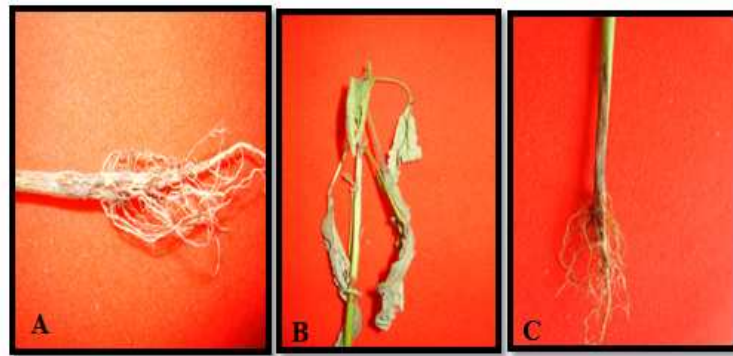
Las plantas infectadas mostraron síntomas 25 días después de haberse inoculado. En donde se observaron los siguientes síntomas: Marchitamiento del follaje (Figura 6.A), Escaso desarrollo y Necrosamiento en la parte basal del tallo, Raíces muertas (Figura 6.B).



**Figura 6.** Síntomas causados por *F. oxysporum*.

#### **Plantas inoculadas con *P. parasitica* Dastur y *F. oxysporum* Schlechtend**

Las plantas infectadas con estos patógenos presentaron síntomas 11 días después de haberse inoculado. Los síntomas consistieron en: Daño de raíz (Figura 7 A), Marchitamiento del follaje (Figura 7 B), Necrosamiento en la parte basal del tallo (Figura 7 C).



**Figura 7.** Síntomas causados por *P. parasitica* y *F. oxysporum*.

#### **Plantas inoculadas con *P. parasitica* Dastur + *F. oxysporum* Schlechtend**

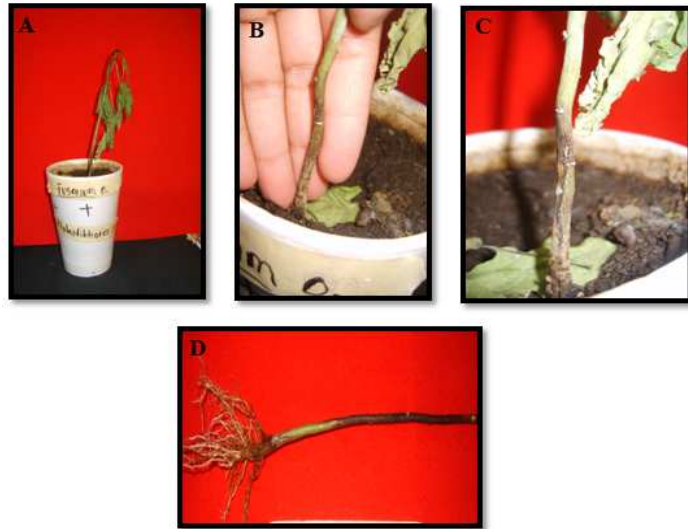
Las plantas infectadas presentaron síntomas 15 días después de haberse inoculado: Marchitamiento del follaje (Figura 8 A, B y C) Necrosamiento en la parte basal del tallo, Daño en la raíz (Figura 8 D).



**Figura 8.** Síntomas causados por *P. parasitica* + *F. oxysporum*.

#### **Plantas inoculadas con *F. oxysporum* Schlechtend + *P. parasitica* Dastur**

Las plantas infectadas con *F. oxysporum* + *P. parasitica* presentaron síntomas entre 22 y 24 días después de haberse inoculado Síntomas: Marchitamiento del follaje (Figura 9 A), Necrosamiento en la parte basal del tallo (Figura 9 B, C y D).



**Figura 9.** Síntomas causados por *F. oxysporum* + *P. parasitica*.

### **Plantas Testigo**

En todos los tratamientos probados en el presente trabajo se notaron claramente las diferencias de los síntomas que se presentaron entre las plantas inoculadas, con respecto al testigo donde no se inoculó ningún patógeno, simplemente se le agregó agua destilada estéril para proporcionar las mismas condiciones de humedad que las plantas inoculadas. Estas plantas durante el desarrollo del experimento se mantuvieron sanas (Figura 10).



**Figura 10.** Plantas testigo.

### Incidencia

Esta medida es útil para evaluar el patrón de distribución de la enfermedad en campo cuando toda la planta está afectada. Principalmente para las enfermedades de hongos con origen en el suelo y enfermedades sistémicas (Kranz, 1974 y Ameson, 2001).

En el cuadro 6 se puede observar el porcentaje de incidencia de cada uno de los tratamientos evaluados en el presente estudio; podemos notar que *P. parasitica* y sus combinaciones fueron los que mayor porcentaje de incidencia tuvieron con un 60 a 100%, mientras que *F. oxysporum* fue de 40%.

**Cuadro 6.** Incidencia de cada tratamiento.

Tratamiento	Incidencia %
1. ( <i>P. parasitica</i> )	100%
2. ( <i>F. oxysporum</i> )	40%
3. ( <i>P. parasitica</i> y <i>F. oxysporum</i> )	100%
4. ( <i>P. parasitica</i> + <i>F. oxysporum</i> )	100%
5. ( <i>F. oxysporum</i> + <i>P. parasitica</i> )	60%
6. (Testigo)	0%

Por otro lado en el cuadro 6 se observa que los tratamientos 1, 3 y 4 fueron los que presentaron mayor virulencia, y una incidencia del 100%. En las cámaras de ambiente controlado se observó que los tratamientos donde se inoculó *P. parasitica* y sus combinaciones fueron los que presentaron síntomas más rápidamente, siendo el tratamiento uno el primero en infectar a las plantas. Lo anterior se puede atribuir a que *P. parasitica* tiene dos sitios de infección, uno se presenta en la base del tallo y otro en la raíces principales y adventicias de las plantas de jamaica (Erwin y Ribeiro, 1996); mientras que *F. oxysporum* (tratamiento 2) únicamente afectó la parte radical de las plantas actuando de manera más lenta para causar infección y por tanto presentó una menor incidencia.

Es importante mencionar que la temperatura no fue factor para favorecer a ningún tratamiento evaluado en el presente estudio, ya que todos presentaron las mismas condiciones de temperatura y horas luz en las cámaras de ambiente controlado.

### **Reaislamiento de *P. parasitica* Dastur y *F. oxysporum* Schlechtend**

De las plantas inoculadas con *P. parasitica*, se reaisló a este mismo patógeno lo cual coincide con lo que menciona Hernández *et al.* (1985, 1987, 2004) y Gonzales, (2008) que el agente causal de la “pata prieta” es *P. parasitica*.

Con la anterior justificación se confirma la patogenicidad que tiene *P. parasitica* en jamaica como uno de los agentes causales de la pata prieta en el estado de Guerrero.

De los resultados obtenidos a partir de la inoculación de *F. oxysporum* con el método de suspensión de esporas, se reaisló a este mismo patógeno, a partir de plantas bajo condiciones de cámara de ambiente controlado con síntomas de marchitez y necrosamiento en la parte basal del tallo, como se muestra en la figura 5. Con lo que se demuestra que esta es una especie que efectivamente se encuentra involucrada causando daño en jamaica en el estado de Guerrero.

Estos resultados coinciden con trabajos realizados por Ooi y Salleh, (1999) donde se encuentra a *F. oxysporum* causando el marchitamiento vascular en plantas de jamaica en Malasia, de igual manera, Amusa *et al.* (2001) reporta la presencia de *F. oxysporum* en aislamientos de suelo y residuos de plantas. Agrios (2005) menciona que *F. oxysporum* y sus diversas formas especiales han sido caracterizadas como causantes de los siguientes síntomas: marchitamiento vascular, amarillamientos, pudrición de raíces y Damping off. Características que coinciden con las observadas en campo para el caso de jamaica.

Estas características descritas coinciden con lo observado en laboratorio en plantas inoculadas con este patógeno por lo cual queda confirmado que *F. oxysporum* al igual que *P. parasitica* se encuentran involucradas en dicha infección.

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y bajo las condiciones experimentales en las que se llevó a cabo el presente trabajo, sobre la patogenicidad e interacción de *P. parasitica* y *F. oxysporum* en el cultivo de la jamaica, se concluye lo siguiente:

- ❖ Se confirmó la presencia así como la patogenicidad de *P. parasitica* y *F. oxysporum* como agentes causales de la “pata prieta” en el estado de Guerrero.
  
- ❖ El principal agente causal de la “pata prieta” de la jamaica en el estado de Guerrero es *P. parasitica* ya que se obtuvo una incidencia de 100% bajo condiciones de ambiente controlado.
  
- ❖ Se comprobó que tanto *P. parasitica* como *F. oxysporum* no necesitan interactuar para producir la enfermedad, es decir, que cada patógeno es capaz de producir la infección por sí mismo, por tanto no hay interacción entre dichos patógenos.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005.** Plant pathology. Elsevier Academic Press. 5° ed. San Diego, CA. USA. 921 p.
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, And M. Blackwell, 1996.** Introductory Mycology. 4<sup>th</sup> Ed. John Wiley and Sons, New York. 869 p.
- Ali-Baldreldin, H., N.A. Wabel y G. Blunden. 2005.** Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: A review. Phytotherapy Research 19:365-375.
- Ames, B.N., M.K. Shigenaga y T.M. Hagen. 1993.** Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing. Proceedings of the National Academy of the United States of America. 90:7915-7922.
- Ameson, P.A. 2001.** Epidemiologia 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](http://www.apsnet.org) (Consulta el 9 de septiembre del 2011).
- Amusa, N.A., A. A., Adegbite, and M. O. Oladapo, 2005.** Vascular Wilt of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) in the Humid Forest Region of South-western Nigeria. Plant Pathology Journal 4(2): 122-125.
- Amusa, N.A., J.O., Kogbe, S. R. Ajibade, 2001.** Stem and foliar blight in Roselle in the tropical forest region of South Western Nigeria. J. Hort. Sci. Biotechnol., 76:681-684.
- Baayen, R. P. 1988.** *Fusarium* wilts of carnation. Disease development, resistance mechanism of the host and taxonomy of the pathogen. Thesis. University Ofutrecht, Holland. *Fusarium*. 60 p.

- Biles, C. L. and R. D. Martin, 1988.** Isozyme analysis *Fusarium oxysporum f. sp. niveum* races and selected *Fusarium sp.* Phytopathology. 78: 625.
- Burges, L. W. 1990.** Laboratory manual for *Fusarium* Research. Department of Plant Pathology and Agricultural Entomology. The University of Sidney. Pp56-57.
- Crane, J. C. 1943.** Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L). as a fiber crop. Economic Plants of interest to the Americas. USDA.47 p.
- Cronquist, A. 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. Columbia University Press. New York. 262 p.
- Dastur, J. F. 1913.** On *Phytophthora parasitica*, nov. spec. A new disease of the castor oil plant. Mem. Dept. Agric. India. Botanical Series 5: 177-231.
- Dunlap, V. C. 1945.** Launching new crops. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) In Wilson, C.M. compiler. New crops for new world. The Macmillan Company. New York. 284-285.
- Echemendia, Y. M. 2001.** Características de *Phytophthora*, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control. En el Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Tesis de licenciatura UACH. 60 p.
- Erwin, D.C; and O. K. Ribeiro, 1996.** *Phytophthora* Diseases Worldwide. St. Paul USA: APS Press 562 p.
- Escalante Estrada, Y. I . 1992.** Patogenicidad de cepas de *Phytophthora parasitica* D. a diferentes concentraciones en jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Memorias XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Saltillo Coahuila. 122 p.
- Fletcher, J. T. and J. A. Martin, 1972.** Spread and control of *Fusarium* wilt incarnation. Plant Pathology. 25: 81- 84.



- Frezzi, M. J. 1950.** Las especies de *Phytophthora* en la Argentina. *Agent. Agron.* 10 (3): 227-230.
- Galicia, F. L. A. 2007.** Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México. 74 p.
- García, M. E. 1995.** Efecto del deterioro de tres tamaños de semilla de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), bajo diferentes periodos de envejecimiento acelerado. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Edo de México. 81 p.
- Gonzales, S. L. 2008.** Etiología de la enfermedad pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) COLPOS. Universidad Autónoma Chapingo, Mexico. 66 p.
- Graham, J. H., R. T. Leonard and J. A. Menge. 1987.** Membranemediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular formation. *plant physiol.* 68:548-552.
- Hernández M. J., A. I., Martínez, M. E Valadez, 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.
- Hernández, M. 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. 74 p.
- Hernández, M. J. 1988.** Interacción entre *Phytophthora parasitica* Dastur y *Meloidogyne* sp. en la “pata prieta” de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) e histopatología de ambos patógenos. Tesis de Maestría. Colegio de postgraduados. Montecillos. Mexico. 75 p.

- Hernández, M. J. y C. S. Romero, 1990.** Identificación del agente causal de “pata prieta” de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.)” y pruebas de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. Revista Chapingo 50-54 p.
- Hernández, M. J., C. S., Romero, M. C. Sosa, 1987.** Identificación de los agentes causales de dos enfermedades de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.) en el estado de Guerrero. Memorias del XIV Congreso Nacional de Fitopatología. Morelia Michoacán. 100 p.
- Herrera, T. y M. Ulloa, 1998.** El reino de los hongos Micología básica y aplicada. 2ª Ed., México, 550 p.
- INEGI. 2010.** Instituto Nacional de Estadística y Geografía .Anuario Estadístico de Producción Agrícola en Guerrero. Biblioteca Digital <http://www.inegi.gob.mx> (consulta 20 de octubre 2011).
- Kranz, J. 1974.** Comparison of epidemics .Annul Review Phytopathology 12:355-374.
- Larios-Romero. J. 2002.** Cosecha mecánica de Jamaica. Revista Agricultura para el productor diversificado. México. 55:30-31.
- López, A.G.F. 1984.** Manejo de hongos fitopatógenos. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 136 p.
- Lumsden, R. D., E. R., García, J. A. Lewis, and T. G. Frías, 1987.** Supresion of damping off caused by *Pythium* spp. in soil from the indegenous Mexican chinampa agricultural system. Soil Biol. Biochem. 19: 501-508.
- Luz, J. W, 2002.** Centro de acopio y planta agroindustrial de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) para la comunidad de Santa María Tonameca, Oaxaca. Tesis profesional .UACH. Chapingo, México. 15 p.
- Maat. L, 1987.** Pasive transport of microconidia of *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi* in carnation after root inoculation. Netherlands Journalof Plant Pathology. 93: 3- 13.
- Mendoza, Z. C, 1986.** Enfermedades fungosas de hortalizas. Edo. de México .Tesis de licenciatura .Universidad Autónoma Chapingo, México.85 p.

- Navarro-García, V. M., G. Rojas, G. Zepeda, M. Aviles, M. Fuentes, A. Herrera and E. Jimenez. 2006.** Antifungal and Antibacterial Activity of Four Selected Mexican Medicinal Plants. *Pharmaceutical Biology*. 44: 297-300.
- Nelson, A. J., K. S., Elías, G. E., Arévalo, Darlington, L. C. and B. A. Bailey, 1997.** Genetic characterization by RAPD analysis of isolates of *Fusarium oxysporum* sp. *erythroxyli* associated with and emerging epidemic in Peru. *Phytopathology*.87: 1220-1225.
- Nigh, L. E. 1973.** Interactions of nematodes with other pathogens attacking plants in the western States. Western Regional Research Project W-56 and Agricultural Experiment Station. The University of Arizona. Tucson, Arizona. Pp 5-6.
- Ocampo A, E. R. 1990.** Estudio vegetativo y reproductivo de la jamaica asociada con maíz. Tesis profesional. CSAEGRO. Iguala. Guerrero, México. 10 p.
- Olunloyo, O. A. and M. O. Adeniji, 1974.** Relative susceptibility of roselle and kenaf varieties to thee isolates of *Phytophthora parasitica* Dast.var.*nicotianae*.
- Omobuwajo, T. O., L. A., Sanni, Y. A. Balami, 2000.** Physical Properties of Sorrel (*Hibiscus Sabdariffa*) Seeds. *Journal of Food Engineering*, Pp 45, 37-41.
- Ooi, K.H.; and Salleh, B. 1999.** Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum*, the causal organism of vascular wilt on Roselle in Malaysus Biotropia, Pp 12: 31-41.
- Patiño. A. 1975.** Cultivo y aprovechamiento de la jamaica. Direccion General de Extensión Agrícola. SAG. Universidad Autónoma Chapingo, México.10 p.
- Ploetz, R.C.; A. J. Palmateer, 2007.** First Report of *Fusarium* Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* on Roselle in the United States. *Plant disease* 84(4):487
- Pushpaveni, G. M., R. Rama and P. Appa. 1973.** Note on pests of mest in Andhra Pradesh. *Jute Bulletin*. 36:106-111
- Rahim, A. A. and F. M. Sharif, 1985.** A study of pepper wilts in northern Iraq. In: Ecology and Management of Soilborne Plant Pathogens. The American Phytopathological.
- 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 Pp 223.

- Rojas, P. J. P. 1999.** Perspectivas de ampliación del mercado de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), del estado de Guerrero. Tesis de licenciatura. División de Ciencias Económico Administrativas, Universidad Autónoma de Chapingo. Edo de México. 67 p.
- Rojas, P. J. P. 2004.** Panorama General de la jamaica. Revista Guerrero sí Produce. 8: 4-6.
- Romero, C. S. 1988.** Hongos fitopatógenos. Ed. Universidad Autónoma Chapingo. Pp. 347.
- SAGARPA, 2010.** Secretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
- SAS Institute. 2011.** SAS/STAT Guide for Personal Computers. SAS. Cary, N.C. 378 p.
- Sistema De Información Agropecuaria De Consultas (SIACON). 2006.** Base de datos con información agropecuaria y pesquera.
- Smith, I. M. 1988.** Manual de enfermedades de las plantas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp. 327,328; 334-337.
- Tsai, P. J., and J. Mcintosh, 2002.** Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) extract .Food Research International. Pp 35:351-356.
- Tuset, J. 1977.** Contribución al conocimiento del género *Phytophthora* de Bary en España. Anuales del Instituto Nacional de Investigación Agraria. Serie Protección Vegetal. 7(1): 106 p.
- Ucan C, I. 1993.** Respuesta a la fertilización en el cultivo de jamaica. Tesis profesional. UACH. Chapingo, México. Pp 5-6.
- Velásquez, V.R., V. F. Rincón, y F. L. C. López, 2000.** Guía para controlar la pudrición de la raíz de chile en Zacatecas y Aguascalientes. Folleto para Productores No. 25. Campo Experimental Calera-INIFAP-SAGAR.
- Waterhouse, G. M. 1956.** The genus *Phytophthora*, diagnosis and figures from the original papers. Misc. Publ. Commonw. Mycology Institute. 12:44-88.
- Watt, J. M. and M. G. Breyer-Brandwijk. 1962.** The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa. 2nd ed. E. & S. Livingstone, Ltd., Edinburgh and London. Pp 1457- 247.
- Westcoott., C. 1971.** Plant disease Hand book. 3a. ed. Vannostrand Reinhold Company. N. Y. USDA. 701 p.

## ANEXOS

**Cuadro 7.** Avance se la enfermedad en días y promedio de este e incidencia en cada uno de los tratamientos.

Tratamientos	Días de avance	Avance final	Plantas muertas
<i>Phytophthora parasítica</i>	12/abril/ (7 ) días	10 cm	5/5
<i>Phytophthora parasítica</i>	15/abril/ (10 ) días	11.5 cm	
<i>Phytophthora parasítica</i>	17/abril/ (12 ) días	8.5 cm	
<i>Phytophthora parasítica</i>	17/abril/ (12 ) días	10 cm	
<i>Phytophthora parasítica</i>	18/abril/ (13 ) días	9.5 cm	
Tratamientos	Días de avance	Avance final	Plantas muertas
<i>Fusarium oxysporum</i>	1/mayo/ (26 ) días	6 cm	2/5
<i>Fusarium oxysporum</i>	30/mayo/ (25 ) días	5 cm	
Tratamientos	Días de avance	Avance final	Plantas muertas
<i>Phytophthora p. y Fusarium o.</i>	16/abril/ (11 ) días	9 cm	5/5
<i>Phytophthora p. y Fusarium o.</i>	16/abril/ (11 ) días	10.5 cm	
<i>Phytophthora p. y Fusarium o.</i>	17/abril/ (12) días	14 cm	
<i>Phytophthora p. y Fusarium o.</i>	19/junio/(75)días	10 cm	
<i>Phytophthora p. y Fusarium o.</i>	19/junio(75)días	10.9	
Tratamientos	Días de avance	Avance final	Plantas muertas
<i>Phytophthora p. + Fusarium o.</i>	12/abril/ (7 ) días	12 cm	5/5
<i>Phytophthora p.+ Fusarium o.</i>	20/abril/ (15 ) días	10 cm	
<i>Phytophthora p.+ Fusarium o.</i>	20/abril/ (15 ) días	10 cm	
<i>Phytophthora p.+ Fusarium o.</i>	19/junio/(75)días	9.0	
<i>Phytophthora p.+ Fusarium o.</i>	20/abril/ (15 ) días	10.3	
Tratamientos	Días de avance	Avance final	Plantas muertas
<i>Fusarium o. + Phytophthora p.</i>	22/abril/ (17 ) días	12.5 cm	5/5
<i>Fusarium o. + Phytophthora p.</i>	22/abril/ (17 ) días	12 cm	
<i>Fusarium o. + Phytophthora p.</i>	24/abril/ (19 ) días	17 cm	
<i>Fusarium o. + Phytophthora p.</i>	23/abril/ (17 ) días	12.9	
<i>Fusarium o. + Phytophthora p.</i>	19/junio/(75)días	10 cm	

**Cuadro 8.** Análisis de varianza del avance final de la enfermedad del cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

<b>Fuentes de variación</b>	<b>gl</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F.C</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Tratamiento	4	334.8776000	83.7194000	19.33	0.0001
Error	20	86.6280000	4.3314000		
Total	24	421.5056000			

CV=22.56290