



Primer reporte de *Fusarium sulawesiensis* (FIESC 16) y *Fusarium pernambucanum* (FIESC 17) como causantes del tizón en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en México

Candelario Ortega-Acosta¹, Daniel Leobardo Ochoa-Martínez^{1*}, Santo Ángel Ortega-Acosta², Javier Hernández-Morales¹, Francisco Palemón-Alberto². ¹Colegio de Postgraduados, Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado México, CP 56264, México, Campus Montecillo. ²Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Autónoma de Guerrero. Periférico Poniente s/n. CP. 40015, Iguala, Guerrero, México.

***Autor de Correspondencia:**

Daniel Leobardo Ochoa-Martínez
ldaniel@colpos.mx

Sección:

Edición periódica

Recibido:

28 Febrero, 2025

Aceptado:

22 Abril, 2025

Publicado:

30 Abril, 2025

Cita:

Ortega-Acosta C, Ochoa-Martínez DL, Ortega-Acosta SA, Hernández-Morales J y Palemón-Alberto J. 2025. Primer reporte de *Fusarium sulawesiensis* (FIESC 16) y *Fusarium pernambucanum* (FIESC 17) como causantes del tizón en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en México. Revista Mexicana de Fitopatología 43(2): 69. <https://doi.org/10.18781/R.ME.X.FIT.2502-1>

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. En la zona productora de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) del estado de Guerrero, México, se detectaron plantaciones con alta incidencia de tizón del cáliz. El objetivo de este estudio fue conocer al agente causal de esta enfermedad.

Materiales y Métodos. Se recolectaron cálices con síntomas y asintomáticos de las variedades “Criolla de Guerrero”, “Sudán” y “China Negra” en los municipios de Ayutla y Tecoaapa, Guerrero. De los cálices con síntomas, se aislaron diferentes cepas de hongos, de las cuales se seleccionaron dos para realizar pruebas de patogenicidad en condiciones de invernadero y se identificaron mediante la amplificación y secuenciación del gen factor de elongación -1 α (EF-1 α) con los iniciadores EF1-728F/EF1-986R.

Resultados y Discusión. Las secuencias obtenidas se compararon con las existentes en las bases de datos del NCBI y *Fusarium* MLST y correspondieron con el complejo de especies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) 16 y 17, llamadas actualmente *Fusarium sulawesiensis* y *Fusarium pernambucanum*, respectivamente. En las pruebas de patogenicidad, las cepas inoculadas indujeron síntomas similares a los observados en campo. Se ha comprobado que el complejo FIESC produce la micotoxina tricoteceno. Por lo tanto, es necesario realizar estudios para determinar la presencia de esta toxina en la jamaica, considerando que su principal uso es la preparación de bebidas refrescantes, lo cual podría representar un riesgo para la salud.

Conclusión. Este es el primer reporte de *Fusarium sulawesiensis* y *Fusarium pernambucanum* como causantes del tizón del cáliz de la jamaica en México y el mundo.

Palabras claves: Complejo fungoso, Factor de elongación -1 α , Filogenia, Cultivos tropicales



INTRODUCCIÓN

En México, se cultiva la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en diversas regiones tropicales y subtropicales bajo condiciones de secano. Guerrero es el principal productor de esta especie con 13,793 ha cultivadas (SIAP, 2025). Diversas enfermedades afectan este cultivo, de las cuales la “pata prieta” causada por *Phytophthora parasitica* y el manchado de los cálices ocasionado por *Corynespora cassiicola*, son las que tienen mayor incidencia e impacto económico (Ortega-Acosta *et al.*, 2015a; 2015b; Ortega-Acosta *et al.*, 2020). En 2017, se observó una nueva enfermedad en este cultivo en los municipios de Tecoaapa y Ayutla, Guerrero, denominada localmente como “bola” de los cálices. Inicialmente la incidencia era baja; sin embargo, incrementó en los posteriores ciclos de cultivo. Con base en lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue conocer el agente causal de esta enfermedad mediante la amplificación parcial del gen factor de elongación EF-1 α y su análisis filogenético.

Muestreo de cálices. Se recolectaron 15 cálices de jamaica con tizón y 15 asintomáticos (Figura 1) de cada una de tres variedades: “Criolla de Guerrero”, “China Negra” y “Sudán” en las localidades de San Miguel (N 16°59'15.4", W 99°05'56.0") y San José La Hacienda (N 16°58'30.7", W 99°03'29.1"), ambas pertenecientes al municipio de Ayutla, así como en Tecuantepec (N 16°59'58.9", W 99°15'10.4") y Saucitos (N 16°59'14.0", W 99°18'16.8") en el municipio de Tecoaapa.

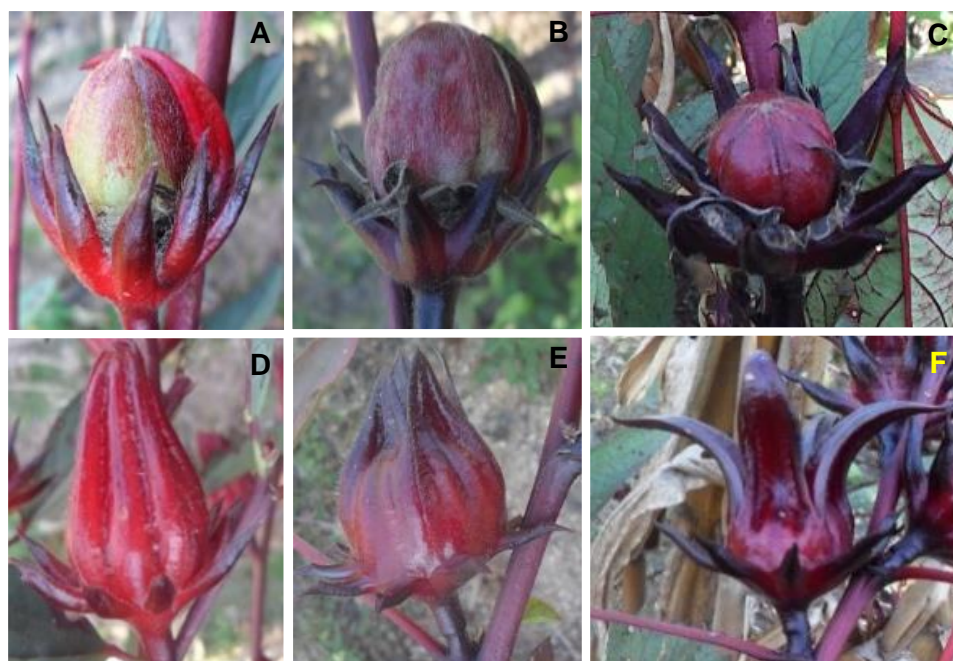


Figura 1. Síntomas del tizón de los cálices en tres variedades de jamaica; se observa que la cápsula queda expuesta debido al atizonamiento de los cálices; **A.** “Criolla de Guerrero”. **B.** “China Negra”. **C.** “Sudán”. Cálices asintomáticos de las diferentes variedades; **D.** “Criolla de Guerrero”, **E**= “China Negra” y **F**= “Sudán”.

Identificación morfológica y molecular. Los cálices recolectados, se colocaron en bolsas de plástico para su traslado al laboratorio de Virus Fitopatógenos, Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. A partir de los cálices con tizón se cortaron fragmentos de tejido de la zona de avance de la lesión, se desinfectaron con hipoclorito de sodio 1 % durante dos minutos, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se colocaron sobre papel absorbente estéril para eliminar el exceso de humedad durante 10 minutos. Los fragmentos de tejido se colocaron en cajas Petri con medio de cultivo PDA y se incubaron a 28 °C. El proceso anterior se realizó también tomando tejido de la parte media de cálices asintomáticos. De manera consistente se tuvo crecimiento micelial a partir de cálices con síntomas, por lo que se obtuvieron colonias fungosas puras por punta de hifa y se tomaron mediciones en cinco de ellas. El hongo obtenido se identificó morfológicamente con las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), Nelson *et al.* (1983) y Leslie y Summerell (2006).

Para conocer molecularmente la especie de este hongo, se seleccionaron cuatro aislamientos denominados BOLCHIN, BOLCHIN-RE (aislados de jamaica “China Negra”), BOLSUD y BOLCRIO (aislados de jamaica “Sudán” y “Criolla de Guerrero”, respectivamente) y de ellos se extrajo ADN con el método AP (Sambrook y Russel, 2001) para amplificar un fragmento de 258 pb del gen factor de elongación-1 α (EF-1 α) con los iniciadores EF1-728F/EF1-986R (Carbone y Kohn 1999). La amplificación se realizó en un termociclador Techne-TC-512[®] siguiendo el programa descrito por Shimomoto *et al.* (2011). Los productos obtenidos de PCR fueron purificados y secuenciados por el método de Sanger (Macrogen Inc. Corea). Las secuencias fueron editadas y ensambladas con el programa MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) y fueron comparadas en la base de datos del NCBI y Fusarium MLST (O'Donnell *et al.*, 2012) (<https://fusarium.mycobank.org/>).

Pruebas de patogenicidad. Para cumplir con los postulados de Koch, un aislamiento de *F. sulawesiensis* (BOLCHIN) y uno de *F. pernambucanum* (BOLCRIO), se inocularon por separado en 15 cálices sanos de jamaica de la variedad “Criolla”. Con un palillo de dientes estéril, se tomó micelio de una colonia pura de cada aislamiento desarrollada en PDA de cinco días de crecimiento y se insertó en cuatro puntos equidistantes alrededor de la base de los cálices. Como control negativo, se tuvieron 10 cálices a los que se les realizaron heridas con palillos de dientes estériles de la manera antes indicada. Todas las plantas se mantuvieron en invernadero cubiertas con una bolsa de plástico transparente durante 48 h, después de lo cual se retiró.

Análisis filogenético. Se realizó un análisis filogenético de las secuencias del fragmento amplificado del gen EF-1 α de los cuatro aislamientos en estudio (BOLCHIN, BOLCHIN-RE, BOLSUD y BOLCRIO) con las disponibles en el GenBank (Xia *et al.*, 2019). Después del alineamiento múltiple de las secuencias, se llevó a cabo un análisis de inferencia bayesiana (BI) utilizando el software MrBayes v.3.2.1 (Ronquist *et al.*, 2012). Para ello, se implementaron cuatro corridas independientes de Markov Chains Monte Carlo (MCMC), cada una con dos análisis paralelos de cuatro cadenas. Las cadenas se iniciaron a partir de árboles aleatorios y se ejecutaron durante 1,000,000 de generaciones, tomando muestras cada 1,000 generaciones. El 25 % de los árboles filogenéticos iniciales generados se descartó como parte de la fase de *burn-in* en cada análisis. A partir de los árboles restantes, se calcularon las probabilidades posteriores (PP) para respaldar los nodos en la topología final. El árbol filogenético se enraizó con la secuencia de *F.*

concolor (GQ505674). Se muestrearon 1,502 árboles y la desviación estándar de las frecuencias de división fue 0.009744. Además, se realizó un análisis de máxima verosimilitud (ML) en raxmlGUI 1.5b2 (Silvestro y Michalak, 2012). Se implementó el método de *bootstrapping* rápido con 1,000 réplicas, utilizando el modelo general reversible en el tiempo (GTR) junto con una distribución gamma (G) para corregir la heterogeneidad en las tasas de sustitución. Los árboles se visualizaron y editaron en el software FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

En las parcelas muestreadas de ambos municipios se observó una incidencia promedio de 5 % de plantas enfermas. Los síntomas que se observaron fue un tizón que cubrió totalmente los cálices mientras que los epicálices no se vieron afectados, pero la cápsula donde se encuentra la semilla quedó expuesta (Figura 1 A, B y C), contrastando con los cálices asintomáticos que cubren totalmente la cápsula (Figura 1 D, E y F).

Identificación morfológica y molecular. Se obtuvieron 10 colonias, las cuales tuvieron rápido crecimiento en medio PDA, mostraron consistencia algodonosa, color naranja intenso en el centro y más claro en los bordes (Figura 2A-B). Produjeron abundantes macroconidios de 3-5 septos, de rectos a ligeramente curvos, de 47.8-10.3 x 4.6-2.4 μm (largo x ancho), con presencia de monofialides, macroconidios con célula basal en forma de pie (Figura 2 C-E) así como clamidosporas en cadena (Figura 2 F-G). Las características morfológicas observadas fueron consistentes para *Fusarium* sp.

Molecularmente, los aislamientos BOLCHIN y BOLCHIN-RE presentaron 100 % de identidad con la filoespecie *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex (FIESC)-16; por su parte, los aislamientos BOLSUD y BOLCRIO tuvieron 100 % de identidad con FIESC-17; las secuencias de los aislamientos en estudio se depositaron en la base de datos del GenBank (MH392482, MH392483, MH392484 y MH392485). Las filoespecies de FIESC fueron recientemente nombradas como *Fusarium sulawesiensis* (FIESC-16) y *Fusarium pernambucanum* (FIESC-17) (Maryani *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2019; Xia *et al.*, 2019).

Se sabe que las especies de FIESC producen la micotoxina tricoteceno (O'Donnell *et al.*, 2013). Ya que en México los cálices de jamaica se utilizan principalmente para la preparación de bebidas refrescantes, es importante realizar estudios para evaluar si dicha toxina está presente.

Análisis filogenético. En el análisis filogenético, las cuatro cepas analizadas, se agruparon en el clado *Incarnatum* (Figura 3). Estos resultados fueron consistentes con lo obtenido en las bases de datos NCBI y Fusarium MLST. Los aislamientos BOLCHIN y BOLCHIN-RE se agruparon con *F. sulawesiensis* con valores de soporte de 0.97/88 (PP/BS) mientras que BOLSUD y BOLCRIO lo hicieron con *F. pernambucanum* con valores de soporte de 1/100 (PP/BS). Los resultados confirmaron la identificación de dichos aislamientos.

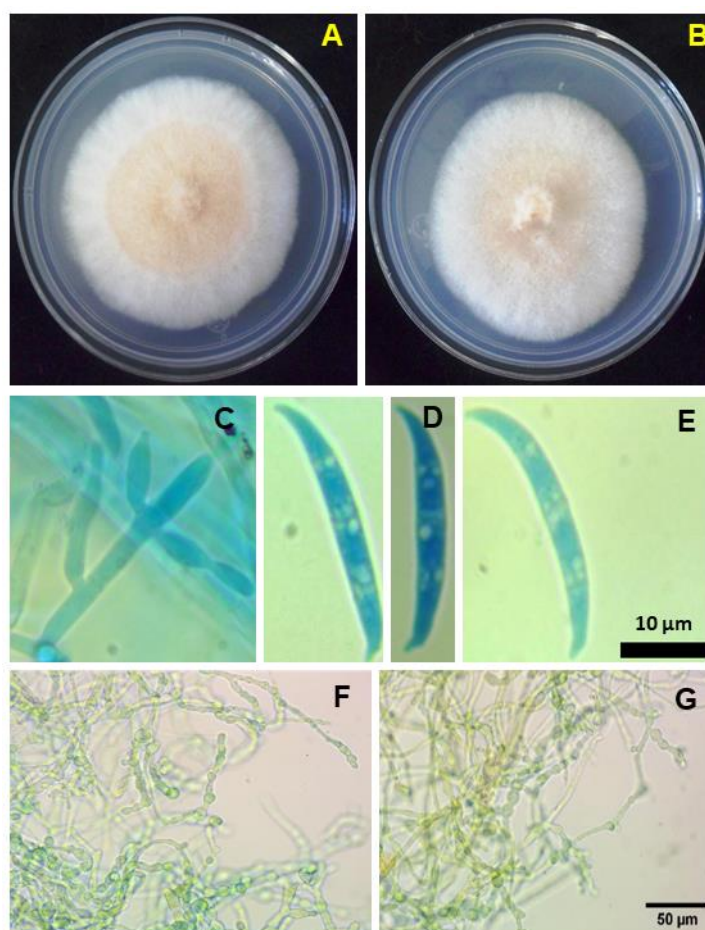


Figura 2. Características morfológicas del complejo de especies *Fusarium incarnatum-equiseti*. A-B = Colonias desarrolladas en PDA durante una semana a 28 °C. A = *F. sulawesiensis* aislamiento BOLCHIN. B = *F. perambucanum* aislamiento BOLCRIO. C = Monofiálides del aislamiento BOLCHIN. D y E = Macroconidios con célula basal en forma de pie de *F. sulawesiensis* y *F. perambucanum*, respectivamente. F y G = Clamidosporas en cadena de *F. sulawesiensis* y *F. perambucanum*, respectivamente.

Prueba de patogenicidad. A los 7 días después de la inoculación (ddi) se tuvo una flacidez y tizón en el cáliz (Figura 4A-B); no se observaron síntomas en las plantas control (Figura 4C). A partir de los 15 cálices inoculados de cada aislamiento, se realizó el reaislamiento y se obtuvieron colonias con las mismas características culturales y morfológicas de los aislamientos inoculados (BOLCHIN y BOLCRIO).

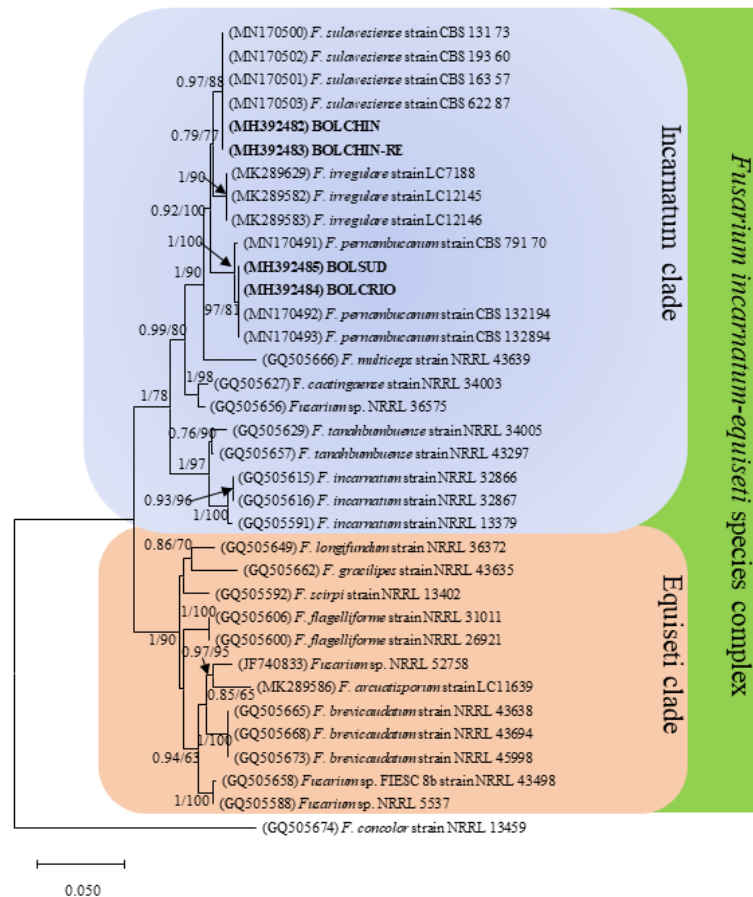


Figura 3. Árbol de máxima verosimilitud (ML), del complejo de especies *Fusarium incarnatum-equiseti* del gen parcial EF-1α. Topología similar se generó usando inferencia bayesiana (BI). Las probabilidades posteriores bayesianas (PP> 0.5) y los valores de soporte Bootstrap (BS> 50) se muestran en los nodos (PP/BS). Las secuencias de este estudio se encuentran en negrita. La barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio. **F. sulawesiense* actualmente reconocida como *F. sulawesiensis* (Xia *et al.*, 2019).



Figura 4. Pruebas de patogenicidad en cálices de jamaica después de 12 días de la inoculación artificial en condiciones de invernadero. A= *F. sulawesiensis* aislamiento BOLCHIN. B= *F. perambucanum* aislamiento BOLCRIO. C=Cáliz en el que únicamente se lesionó la parte basal con un palillo de diente estéril.

En México, se han reportado dos enfermedades en cálices de jamaica: “mancha acuosa” causada por *Pilidiella diplodiella* (Correa-Sánchez *et al.*, 2011) y “manchado de cálices” causado por *Corynespora cassiicola* (Ortega-Acosta *et al.*, 2015a). Por otro lado, existen reportes de diferentes especies del género *Fusarium*, incluidas las del clado FIESC, ocasionando diversas enfermedades en jamaica como *F. incarnatum* (FIESC) asociado a la pudrición basal (Ortega-Acosta *et al.*, 2015b). En países como Estados Unidos de América, Nigeria, Malasia y Egipto se ha reportado a *F. equiseti*, *F. semitectum* (FIESC), *F. oxysporum* y *F. solani* como causantes de marchitez y necrosis del tallo de jamaica (Ooi KH y Salleh, 1999; Amusa *et al.*, 2005; Ploetz *et al.*, 2007; Hassan *et al.*, 2014). En Malasia se reportó a *F. camptoceras* y *F. nygamai* como patógenos que infectan tejido foliar en plántulas de jamaica (Eslaminejad y Zakaria, 2011).

En esta investigación *F. sulawesiensis* (FIESC-16) y *F. perambucanum* (FIESC-17) fueron identificados por primera vez como causantes del tizón en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en México. Adicionalmente, se reporta por primera vez a *H. sabdariffa* como nuevo hospedante de *F. sulawesiensis* (FIESC-16) y *F. perambucanum* (FIESC-17) a nivel mundial.

Conflictos de interés

Todos los autores declaran no tener conflicto de interés

REFERENCIAS

- Amusa NA, Adegbite AA and Oladapo MO. 2005. Vascular wilt of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) in the humid forest region of south-western Nigeria. *Plant Pathology Journal* 4: 122-125. <https://doi.org/10.3923/ppj.2005.122.125>
- Barnett HL and Hunter BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. Burgess Publishing Company, Minnesota, USA. 218 p.
- Carbone I and Kohn L. 1999. A Method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes. *Mycologia* 91(3): 553-556. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061051>.
- Correa-Sánchez E, Ortiz-García CF, Torres-de la Cruz M, Bautista-Muñoz CC, Rivera Cruz MC, Lagunes Espinoza LC and Hernández Salgado JH. 2011. Etiología de la mancha acuosa de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Tabasco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29: 165-167. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092011000200008.
- Eslaminejad T and Zakaria M. 2011. Morphological characteristics and pathogenicity of fungi associated with Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) diseases in Penang, Malaysia. *Microbial Pathogenesis* 51: 325-337. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2011.07.007>.
- Hassan N, Shimizu M and Hyakumachi M. 2014. Occurrence of Root Rot and Vascular Wilt Diseases in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Upper Egypt. *Mycobiology* 42(1): 66-72. <https://doi.org/10.5941/myco.2014.42.1.66>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C and Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Leslie JF and Summerell BA. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA. 388 pp.
- Maryani N, Sandoval-Denis M, Lombard L, Crous PW and Kema GHJ. 2019. New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. *Persoonia* 43: 48-69. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.02>
- Nelson PE, Toussoun TA and Marasas WFO. 1983. *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. University Park, Pennsylvania, USA. The Pennsylvania State University Press. 193 p.

- O'Donnell K, Humber RA, Geiser DM, Kang S, Park B, Robert VA, Crous PW, Johnston PR, Aoki T, Rooney AP and Rehner SA. 2012. Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and Fusarium MLST. *Mycologia* 104(2): 427-445. <https://doi.org/10.3852/11-179>
- O'Donnell K, Rooney AP, Proctor RH, Brown DW, McCormick SP, Ward TJ, Frandsen JN, Lysoe E, Rehner SA, Aoki T, Robert VARG, Crous PW, Groenewald JZ, Kang S and Geiser DM. 2013. Phylogenetic analysis of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology* 52: 20-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2012.12.004>.
- Ooi KH and Salleh B. 1999. Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum*, the causal organism of vascular wilt on roselle in Malaysia. *Biotropia* 12: 31-41.
- Ortega-Acosta SÁ, Mora-Aguilera JA, Velasco-Cruz C, Ochoa-Martínez DL, Leyva-Mir SG and Hernández-Morales J. 2020. Temporal progress of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) leaf and calyx spot disease (*Corynespora cassiicola*) in Guerrero, Mexico. *Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00550-1>
- Ortega-Acosta SA, Hernández-Morales J, Ochoa-Martínez DL and Ayala-Escobar V. 2015a. First report of *Corynespora cassiicola* causing leaf and calyx spot on roselle in Mexico. *Plant Disease* 99: 1041. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-04-14-0438-pdn>.
- Ortega-Acosta SA, Hernández-Morales J, Sandoval-Islas JS, Ayala-Escobar V, Soto-Rojas L and Alejo-Jaimes A. 2015b. Distribución y Frecuencia de Organismos Asociados a la Enfermedad “Pata Prieta” de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 173-194. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1602-1>.
- Ploetz RC, Palmateer AJ, Geiser DM and Juba JH. 2007. First report of Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* on roselle in the United States. *Plant Disease* 91: 639. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-5-0639A>.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA and Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Sambrook J and Russel DW. 2001. Rapid isolation of yeast DNA. In: *Molecular cloning, a laboratory manual*. Sambrook J and Russel DW (Eds.). Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 631-632 pp. <https://doi.org/10.1002/abio.370050118>.
- Santos ACS, Trindade JVC, Lima CS, Barbosa RN, Costa AF, Tiago PV and Oliveira NT. 2019. Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. *Mycologia* 111(2): 244-259. [10.1080/00275514.2019.1573047](https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1573047).
- Shimomoto Y, Sato T, Hojo H, Morita Y, Takeuchi S, Mizumoto H, Kiba A and Hikichi Y. 2011. Pathogenic and genetic variation among isolates of *Corynespora cassiicola* in Japan. *Plant Pathology* 60: 253-260. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02374.x>.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2025. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en línea <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Acceso 30-Enero-2025).
- Silvestro D and Michalak I. 2012. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity & Evolution* 12: 335-337. <https://doi.org/10.1007/s13127-011-0056-0>
- Xia JW, Sandoval-Denis M, Crous PW, Zhang XG and Lombard L. 2019. Numbers to names restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *Persoonia* 43: 186-221. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.05>