

CAMBIOS EN TAMAÑO Y CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DURANTE SU MADURACIÓN

Benjamín Ramírez-Cortés¹; Francisco de Jesús Caro-Velarde¹; María Goreti Valdivia-Reynoso¹;
María Hilda Ramírez-Lozano²; María Luisa Machuca-Sánchez²

¹Unidad Académica de Agricultura. Universidad Autónoma de Nayarit. Carretera Tepic-Compostela km 9, Xalisco, Nayarit, C. P. 63780. MÉXICO.
Correo-e: benjaram@nayar.uan.mx (¹Autor para correspondencia)

²Dirección de Fortalecimiento a la Investigación.
Universidad Autónoma de Nayarit. Ciudad de la Cultura "Amado Nervo". Tepic, Nayarit, C. P. 63190. MÉXICO.

RESUMEN

En la planta de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) la transición de la floración a la fructificación es gradual, lo que origina que durante la cosecha se obtengan cálices tanto maduros como inmaduros. Para determinar el tiempo óptimo de cosecha, se analizaron los cambios en tamaño (diámetro y longitud) y características químicas (materia seca, pH y contenido de antocianinas) en cálices de tres ecotipos (China, Reina y Criolla) en nueve estados de madurez (estado de floración y después cada cuatro días hasta 32 días después de la floración). El tamaño del cáliz aumentó progresivamente hasta 20 a 24 días después de la floración (estados 6 y 7, respectivamente) y posteriormente el aumento no fue significativo. El diámetro del cáliz varió de 14.34 a 30.96 mm y la longitud de 18.60 a 56.76 mm. Reina tuvo cálices de longitud mayor y China de diámetro mayor. El contenido de antocianinas varió de 205.93 a 1110.74 mg·100 g⁻¹ de cálices secos; China presentó el contenido más alto desde la floración hasta el estado 6, en Reina aumentó gradualmente hasta el estado 7 y Criolla presentó un pico máximo en el estado 4. El contenido de antocianinas disminuyó después de 20 a 24 días de la floración. El contenido de materia seca descendió conforme los cálices maduraron y el pH presentó ligeras fluctuaciones con valores de 2.11 a 2.81. Estos resultados sugirieron que los cálices alcanzaron su madurez para cosecha a 24 días después de la floración.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Cálices, materia seca, antocianinas, maduración, jamaica.

CHANGES IN SIZE AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.)

CALYCES DURING MATURATION

ABSTRACT

In the roselle plant (*Hibiscus sabdariffa* L.), the transition from flowering to fruiting is gradual, resulting in both mature and immature calyces during harvest. To determine optimal harvest time, changes in size (diameter and length) and chemical characteristics (dry matter, pH and anthocyanin content) of calyces of three ecotypes (China, Reina and Criolla) in nine stages of maturity (flowering stage and then every four days until 32 days after flowering) were analyzed. Calyx size increased progressively until 20 to 24 days after flowering (stages 6 and 7, respectively), but the increase in subsequent stages was not significant. Calyx diameters ranged from 14.34 to 30.96 mm and length from 18.60 to 56.76 mm. The Reina ecotype had larger calyces and China the greatest diameter. Anthocyanin content ranged from 205.93 to 1110.74 mg 100 g⁻¹ of dried calyces; China had the highest content from flowering until stage 6, whereas in Reina it increased gradually until stage 7 and in Criolla it peaked in stage 4. Anthocyanin content decreased after 20 to 24 days of flowering. Dry matter content decreased as the calyces matured, falling from 17.86 % to 10.43 % throughout the maturation stages, while pH showed slight fluctuations with values from 2.11 to 2.81. These results suggest that calyces reach harvest maturity 20-24 days after flowering.

ADDITIONAL KEY WORDS: Calyces, dry matter, anthocyanins, maturity, roselle.

INTRODUCCIÓN

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), conocida en otros países como “roselle”, “sorrel” o “karkadé”, es un arbusto anual perteneciente a la familia *Malvaceae*, que se cultiva en regiones tropicales y subtropicales para obtener fibra, pulpa para papel o cálices, hojas y semillas comestibles. Esta especie probablemente se introdujo al hemisferio oeste por esclavos africanos en el siglo XVII (Vaidya, 2000), y en México se cultiva desde la época colonial, donde los cálices secos se comercializan generalmente para utilizarlos en la elaboración de bebidas refrescantes o en infusiones. A nivel industrial los extractos de sus cálices tienen usos potenciales como colorantes y saborizantes de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Con los cálices también se pueden obtener jaleas, mermeladas y harina para galletas (Galicia *et al.*, 2008). Recientemente, sus extractos se han comercializado como suplementos naturales debido a sus potenciales beneficios para la salud. La medicina tradicional los recomienda para enfermedades del riñón y vías urinarias, pero también son usados como bactericidas, antimicóticos, hipocolesterolémicos, antiespasmódicos, diuréticos, uricosúricos, laxativos, antihipertensivos, antiinflamatorios, antimutagénicos e inmunomoduladores (Maganha *et al.*, 2010).

Entre las principales características que demanda el mercado de los cálices se encuentran: integridad, pureza física, inocuidad, color rojo oscuro, aroma floral característico, sabor ácido y astringente, humedad máxima de 12 % y materia seca mínimo de 88 % (Anónimo, 2007). El contenido de ácidos orgánicos le confiere el sabor ácido a las bebidas de jamaica, y el color rojo intenso se debe al contenido de antocianinas (Anónimo, 2000).

La jamaica es una planta anual, con período vegetativo de cuatro a cinco meses; la inducción floral ocurre cuando los días tienden a ser más cortos (Arbex *et al.*, 2004). Las flores son axilares y solitarias, abren un solo día y después de un corto tiempo la corola se marchita y cae quedando sólo los cálices adheridos al fruto, que es una cápsula donde se encuentran las semillas. Durante la fructificación, los cálices se alargan, se tornan carnosos y al final del ciclo vegetativo son cosechados y deshidratados generalmente al sol (Hidalgo *et al.*, 2009). En la jamaica, al igual que en otras especies del género *Hibiscus*, la transición de la floración a la fructificación es gradual, porque la antesis de las flores jóvenes continúa después de que las flores viejas ya han formado las cápsulas (Acosta, 1999). Generalmente los agricultores cosechan la jamaica hasta el final del ciclo, lo que origina que se obtengan cálices tanto maduros como inmaduros (Duke, 2003; Morton, 1974).

Diversos trabajos han reportado caracterizaciones agronómicas, donde incluyen información relacionada con el rendimiento de cálices secos por hectárea (Arbex *et al.*, 2004; Ibrahim y Hussein, 2006; Bhajantri *et al.*, 2007; Ruelas *et al.*, 2008), caracterizaciones morfológicas (Hidalgo, *et al.*, 2009) y composición proximal de los cálices (Adanlawo

INTRODUCTION

The roselle plant (*Hibiscus sabdariffa* L.), known in Mexico as “jamaica” and elsewhere as “sorrel” or “karkadé”, is an annual shrub belonging to *Malvaceae* family; it is grown in tropical and subtropical regions for fiber, pulp paper or calyces, edible leaves, and seeds. This species was probably introduced into the Western Hemisphere by African slaves in the seventeenth century (Vaidya, 2000), and in Mexico, where it has been cultivated since colonial times, dried calyces are generally marketed for use in the production of refreshing drinks or in infusions. At the industry level, calyx extracts have potential uses as food colorings and flavorings, cosmetics and pharmaceuticals. The calyces can also be used to make jellies, jams and flour for cookies (Galicia *et al.*, 2008). Recently, calyx extracts have been marketed as natural supplements due to their potential health benefits. Traditional medicine recommends their use against kidney and urinary tract diseases, and they are also used as bactericides, antifungal agents, hypocholesterolemic agents, antispasmodics, diuretics, laxatives, antihypertensives, anti-inflammatory agents, antimutagens and immunomodulators (Maganha *et al.*, 2010).

Calyx quality standards are: integrity, physical purity, safety, dark red color, distinctive floral aroma, sour, and astringent taste and, 12 % maximum moisture content (Anonymous, 2007). Organic acid content gives roselle beverages their sour taste, and the deep red color is due to anthocyanin content (Anonymous, 2000).

The roselle is an annual plant with a growing season of four to five months. Floral induction occurs when days tend to be shorter (Arbex *et al.*, 2004). The flowers are axillary and solitary; they open for only one day and after a short time the corolla withers and falls, leaving only the calyces attached to the fruit, a capsule containing the seeds. During fruiting, the calyces enlarge, become fleshy and at the end of the plant cycle they are harvested and usually dried at sun light (Hidalgo *et al.*, 2009). In roselle, as in other species of the genus *Hibiscus*, the transition from flowering to fruit ripening is gradual because the anthesis of the young flowers continues after the old flowers have already formed capsules (Acosta, 1999). Generally, farmers harvest the roselle at the end of the cycle, therefore in obtaining both mature and immature calyces (Duke, 2003; Morton, 1974).

Several studies have reported agronomic characteristics, including information related to dried calyx yield per acre (Arbex *et al.*, 2004; Ibrahim and Hussein, 2006; Bhajantri *et al.*, 2007; Ruelas *et al.*, 2008), morphological characterizations (Hidalgo *et al.*, 2009), and approximate composition of the calyces (Adanlawo *et al.*, 2006). However, there is a lack of information on the evolution of calyces during fruit ripening. A study by Christian and Jackson (2010) reports changes in total phenolic content, monomeric anthocyanins, and antioxidant activity during maturation for three roselle varieties. Therefore more information needs to be generated on the evolution during ripening of other

et al., 2006). Sin embargo, existen enormes vacíos de información sobre la evolución de los cálices durante su fructificación. Sólo un trabajo realizado por Christian y Jackson (2010) reporta los cambios en el contenido de compuestos fenólicos totales, antocianinas monoméricas y actividad antioxidante durante su maduración en tres variedades de jamaica. Es necesario generar información relativa a la evolución, durante la maduración, de otras características de interés para las prácticas agrícolas y comerciales, que permitan estimar cuándo los cálices han alcanzado su madurez para ser cosechados. La variedad y el estado de madurez de los cálices de jamaica al momento de la cosecha podrían ser de particular interés para la industria de alimentos, así como de diferentes prácticas agrícolas que podrían afectar los niveles de principios activos benéficos para la salud que se obtienen mediante el consumo de cálices de jamaica con diferentes estados de madurez. En este estudio se analizaron los cambios en el tamaño y características químicas de los cálices de tres ecotipos de jamaica durante su maduración, para determinar el tiempo óptimo de cosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron cálices de tres ecotipos de jamaica, que se conocen en el estado de Nayarit con los nombres comunes de China, Reina y Criolla. El cultivo se estableció en el mes de julio del año 2009, en una parcela experimental de la Unidad Académica de Agricultura, dependiente de la Universidad Autónoma de Nayarit, ubicada en el municipio de Xalisco, Nayarit (21° 26' 00" LN, 104° 53' 30" LW, 900 m). Cada ecotipo se estableció en ocho surcos de 6.0 m de longitud y separación entre surcos de 1.0 m; cada parcela estuvo formada por 96 plantas, con una separación de 0.5 m y las muestras se tomaron de 27 plantas seleccionadas al azar en los surcos centrales. Durante la etapa de floración se etiquetaron botones en estado de pre-floración, un día antes de la apertura de la flor, que se localizaron en el tallo en el estrato medio y superior de la planta y para cada estado de madurez se cosechó un cáliz por planta. Los tres ecotipos presentaron algunas características que son contrastantes entre ellas (Figura 1), como el ciclo vegetativo, pigmentación por antocianinas y rendimiento de cálices secos por hectárea (Caro *et al.*, 2010).

Preparación de las muestras

Los cálices se obtuvieron en nueve estados de madurez: Estado 1 (cálices del día de la floración); Estado 2 (cuatro días después de la floración); Estado 3 (ocho días después de la floración); Estado 4 (12 días después de la floración); Estado 5 (16 días después de la floración); Estado 6 (20 días después de la floración); Estado 7 (24 días después de la floración); Estado 8 (28 días después de la floración) y Estado 9 (32 días después de la floración). A los cálices recién cosechados se les midió la longitud

features of interest for agricultural and marketing practices to estimate when the calyces reach harvest maturity. This could be of particular interest to the food industry, as well as various agricultural practices that could affect the levels of active ingredients beneficial for health obtained by consuming roselle calyces with different stages of maturity. This study analyzed changes in size and chemical characteristics of calyces of three roselle varieties during maturation in order to determine optimal harvest time.

MATERIALS AND METHODS

Plant varieties

Calyces of three roselle ecotypes, commonly known in the state of Nayarit as China, Reina (Queen) and Criolla (Creole), were used. The crop was established in July, 2009, in the Universidad Autónoma de Nayarit, located in the municipality of Xalisco, Nayarit (21° 26' 00" NL, 104° 53' 30" WL, 900 m). Experimental plots consisted of eight rows of 6.0 m in length, separated 1.0 m apart. Each plot had 96 plants, separated by 0.5 m; samples were taken from 27 randomly-selected plants from rows in the middle of the plot. During the flowering stage, buds were labeled in pre-flowering stage, one day before the flower opened, located at the the upper-middle strata of the plant opened at maturity one calyx per plant was harvested. The three ecotypes behaved differently features (Figure 1), for plant cycle, anthocyanin pigmentation, and dried calyx yield per hectare (Caro *et al.*, 2010).

Sample preparation

Calyces were obtained in nine stages of maturity: Stage 1 (calyces from the day of flowering); Stage 2 (four days after flowering); Stage 3 (eight days after flowering); Stage 4 (12 days after flowering); Stage 5 (16 days after flowering); Stage 6 (20 days after flowering); Stage 7 (24 days after flowering); Stage 8 (28 days after flowering) and Stage 9 (32 days after flowering). The freshly-harvested calyces were measured for length and diameter and also analyzed for dry matter content. Six calyces of each ecotype and maturity stage were placed in a drying oven at 50 °C for 24 h. With the dried calyces, an aqueous extract was obtained to determine total monomeric anthocyanin content and pH.

Size

In the calyces collected of each ecotype and maturity stage, diameter and length were measured with a Mitutoyo digital vernier caliper with 130 mm scale and 0.01 mm sensitivity. Length was considered from the base of the epicalyx to the tip of the sepals (Figure 1), and diameter was measured transversely at the level where the epicalyx bracts end.

Dry matter

Calyx dry matter was obtained by gravimetric determination of water by drying and weighing as described by Ruiz (2001). Two grams of sample were placed in a Lu-

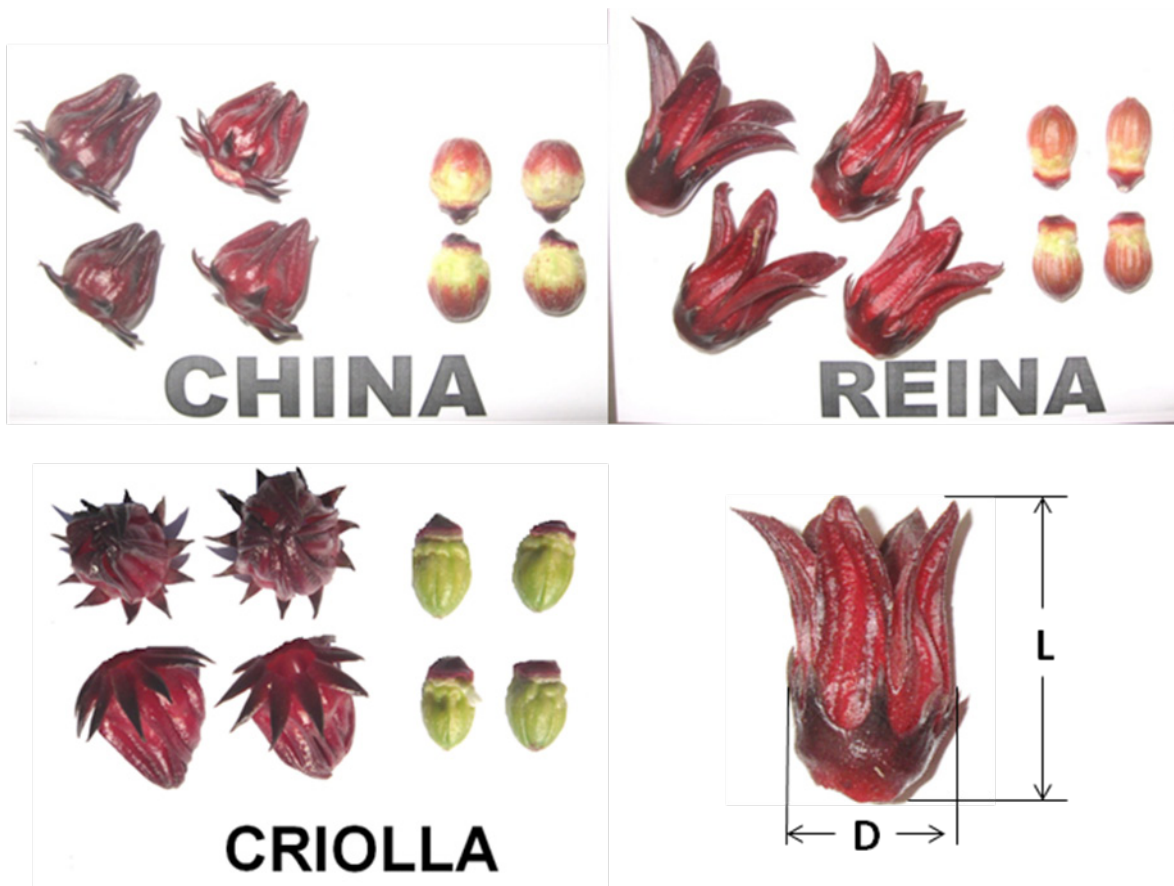


FIGURA 1. Apariencia de los cálices y frutos de los ecotipos China, Reina y Criolla que se cultivan en el estado de Nayarit, México y esquema que indica donde se realizó la medición del diámetro (D) y la longitud (L)

FIGURE 1. Appearance of the calyces and fruits of the China, Reina and Criolla ecotypes grown in the state of Nayarit, Mexico and a diagram showing where diameter (D) and length (L) were measured.

y el diámetro y se les determinó el contenido de materia seca. Seis cálices de cada ecotipo y estado de madurez se colocaron en un horno de secado a 50 °C durante 24 h. Con los cálices secos se obtuvo un extracto acuoso al que se le determinó el contenido de antocianinas monoméricas totales y el pH.

Tamaño

En los cálices recolectados de cada ecotipo y estado de madurez, se midieron el diámetro y la longitud con un vernier digital marca Mitutoyo con escala de 130 mm y sensibilidad de 0.01 mm. La longitud se consideró desde la base del epicáliz hasta la punta de los sépalos (Figura 1), y el diámetro se midió en forma transversal a la altura donde terminan las brácteas del epicáliz.

Materia seca

La determinación de materia seca de los cálices se realizó de acuerdo al método gravimétrico por secado y pesado descrito por Ruiz (2001). Se utilizaron dos gramos de muestra que se colocaron en un horno de secado, marca Lumistell, modelo HTP-42 a 60 °C hasta obtener un

mistell HTP-42 drying oven at 60 °C until constant weight. Initial and final weights of the sample were recorded and the results expressed as percentages.

Total monomeric anthocyanin content and pH

Total monomeric anthocyanin content was determined spectrophotometrically according to the protocol described by Giusti and Wrolstad (2001), which uses the pH differential method. Dried calyces were passed through a blender with No. 60 mesh. For the aqueous extraction, one gram of ground dried calyces was placed in 99 mL of distilled water for three hours with continuous stirring and then filtered using Whatman No. 5 paper. This solution was analyzed for pH with a Corning 350 potentiometer. For analysis of total monomeric anthocyanin content, absorbance was measured at wavelengths of 510 and 700 nm in a Jenway 6405 UV-VIS spectrophotometer. Pigment content was calculated as cyanidin-3-glucoside (449.2 g·mol⁻¹ molecular weight and $\epsilon = 26,900 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ molar extinction coefficient) and obtained as total monomeric anthocyanins (mg·L⁻¹). From this data, the calculation for anthocyanin content included 1.0 g of dry sample in 100 mL of extraction mixture and was expressed as mg 100 g⁻¹ of dried calyx.

peso constante. Se registró el peso inicial y el peso final de la muestra y los resultados se reportaron en porcentaje.

Contenido total de antocianinas monoméricas y pH

El contenido total de antocianinas monoméricas se determinó por espectrofotometría de acuerdo al protocolo descrito por Giusti y Wrolstad (2001), que utiliza el método diferencial de pH. Los cálices secos se pasaron a través de un molino de cuchillas con malla número 60. Para la extracción acuosa se colocó un gramo de muestra de los cálices secos molidos en 99 ml de agua destilada por tres horas con agitación continua y posteriormente se filtró en papel Whatman número 5. A esta solución se le determinó el pH con un potenciómetro marca Corning modelo 350. Para el análisis del contenido total de antocianinas monoméricas, se midió la absorbancia a longitudes de onda de 510 y 700 nm en un espectrofotómetro UV-VIS marca Jenway modelo 6405. El contenido del pigmento se calculó como cianidina-3-glucósido (peso molecular de $449.2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ y coeficiente de extinción molar $\epsilon = 26,900 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) y se obtuvo como antocianinas monoméricas totales ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). A partir de este dato, el cálculo para el contenido de antocianinas incluyó 1.0 g de muestra seca en 100 mL de la mezcla de extracción y se expresó como $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de cálices secos.

Análisis estadístico

Los tratamientos se obtuvieron mediante un arreglo factorial 3×9 , donde el factor A correspondió a los ecotipos y el factor B a los muestreos de los cálices en las diferentes etapas de madurez. El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. A los datos se les realizó un análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples por el método de Tukey ($P \leq 0.05$) con el paquete estadístico Statgraphic, Versión 4.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cálices de jamaica durante su desarrollo sufrieron cambios en su tamaño y características químicas con efectos altamente significativos ($P \leq 0.01$) tanto por ecotipo como por estado de madurez (Cuadro 1). El carácter que más varió entre los tres ecotipos fue el contenido de antocianinas ($\text{CV} = 15.0$), en tanto que el pH ($\text{CV} = 0.16$) presentó la menor variación. Estos datos reflejaron que la variabilidad existente entre los tres ecotipos (Figura 1) también se manifestó en la variación en el tamaño y la concentración de sus componentes químicos en el desarrollo de los cálices durante su maduración.

Tamaño

La longitud y el diámetro de los cálices de los tres ecotipos de jamaica a diferentes estados de madurez se muestran en la Figura 2. La longitud varió de 18.60 a 56.76 mm y el diámetro de 14.34 a 30.96 mm. El análisis de varianza para longitud y diámetro de los cálices (Cuadro

Statistical analysis

The treatments were obtained using a 3×9 factorial arrangement, where factor A was the ecotypes and factor B the sampling of the calyces at different stages of maturity. The experimental design was completely randomized with three replications. The data underwent an analysis of variance and Tukey's multiple comparison test ($P \leq 0.05$) with Statgraphic statistical software, Version 4.0.

RESULTS AND DISCUSSION

During development, the roselle calyces underwent changes in size and chemical characteristics with highly significant effects ($P \leq 0.01$) both by ecotype and stage of maturity. The character that most varied among the three ecotypes was anthocyanin content ($\text{CV} = 15.0$), while pH ($\text{CV} = 0.16$) had the lowest variation. These data showed that the variability among the three ecotypes (Figure 1) was also evident in the variation in size and concentration of chemical components in the development of the calyces during maturation.

Size

The length and diameter of the calyces of the three roselle ecotypes at different stages of maturity are shown in Figure 2. Length ranged from 18.60 to 56.76 mm and diameter from 14.34 to 30.96 mm. The analysis of variance for the length and diameter of the calyces (Table 1) showed that there are highly significant effects by ecotype, maturity stage and the interaction between them ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.94$). The Reina ecotype had the largest calyces, with an average length of 44.15 mm and intermediate diameter (23.59 mm) compared with the other two ecotypes; China calyces had greater diameter (24.58 mm) and lesser length (30.85 mm), while the Criolla ecotype had the smallest calyces with the smallest diameter (19.76 mm) and intermediate length (32.96 mm) compared with the other two ecotypes. Regarding the evolution of these characters at the different stages of maturity, there was a significant increase (Table 2) in calyx length up to 20 days after flowering (stage 6), except in stage 3 in the Reina ecotype, and in diameter up to 24 days after flowering (stage 7), after which calyx growth in terms of these two characteristics was not significantly different (Tukey, $P \leq 0.05$) in the subsequent maturity stages. Calyx development followed a behavioral trend similar to that of fruits and vegetables that show a simple sigmoid curve (Cruz *et al.*, 2007), with gradual growth in the early days of development to remain almost constant thereafter. The decrease in the calyx growth rate between 20 and 24 days after flowering could be seen as a chronological indicator for cutting, as it is thought that the reduced growth gives way to other physiological processes that lead to senescence and degradation by biotic and abiotic factors. In this regard, Arbex *et al.* (2004) note that many of the calyces that are not harvested until the end of the cycle have already passed the point of harvest and become senescent,

CUADRO 1. Análisis de varianza factorial y prueba de comparación múltiple aplicado al tamaño y características químicas de los cálices de tres ecotipos de jamaica durante su maduración.**TABLE 1. Factorial analysis of variance and multiple comparison test applied to size and chemical characteristics of three roselle ecotypes during maturation.**

Características		Ecotipo (V)	Estado de madurez (ED)	Interacción V x ED	CV	R ²	China	Reina	Criolla
		Pr>F	(ED) Pr>F	Pr>F					
Tamaño	Longitud	0.0001	0.0001	0.0001	9.94	0.94	30.85 ^c	44.15 ^a	32.96 ^b
	Diámetro	0.0001	0.0001	0.0001	9.61	0.92	24.58 ^a	23.59 ^b	19.76 ^c
Químicas	CA	0.0001	0.0001	0.0001	15.00	0.97	1006.05 ^a	488.10 ^b	299.90 ^c
	pH	0.0001	0.0001	0.0001	0.16	0.99	2.52 ^b	2.61 ^a	2.47 ^c
	MS	0.0002	0.0001	0.0008	7.17	0.90	12.35 ^b	12.17 ^b	13.26 ^a

^c CA: contenido de antocianinas; MS: materia seca

[†] Ecotipo: China, Reina y Criolla.

^{*} Estado de madurez: Estado 1 (día de la floración); Estado 2 (cuatro días después de la floración); Estado 3 (ocho días); Estado 4 (12 días); Estado 5 (16 días); Estado 6 (20 días); Estado 7 (24 días); Estado 8 (28 días) y Estado 9 (32 días después de la floración).

^{**} Medias de cada variable con la misma letra entre ecotipos, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

[†] CA: Spanish acronym for anthocyanin content; MS: dry matter

[†] Ecotype: China, Reina and Criolla.

^{*} Stage of maturity: Stage 1 (day of flowering); Stage 2 (four days after flowering); Stage 3 (eight days); Stage 4 (12 days); Stage 5 (16 days); Stage 6 (20 days); Stage 7 (24 days); Stage 8 (28 days); Stage 9 (32 days after flowering).

^{**} Means of each variable with the same letter within ecotypes are equal according to Tukey's test at $P \leq 0.05$.

1) mostró que existen efectos altamente significativos por ecotipo, estado de madurez y la interacción entre ambos ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.94$). El ecotipo Reina presentó los cálices de mayor tamaño, con una longitud media de 44.15 mm y diámetro intermedio (23.59 mm) en comparación con los otros dos ecotipos; China presentó cálices con mayor diámetro (24.58 mm) y menor longitud (30.85 mm), en tanto que el ecotipo Criolla presentó los cálices más pequeños con menor diámetro (19.76 mm) y longitud intermedia (32.96 mm) en comparación con los otros dos ecotipos. Respecto a la evolución de estos caracteres en los diferentes estados de madurez, se observó un aumento significativo (Cuadro 2) en la longitud de los cálices hasta 20 días después de la floración (estado 6), excepto en el estado 3 para el ecotipo Reina y en el diámetro hasta 24 días después de la floración (estado 7), a partir del cual el crecimiento del cáliz respecto a estos dos caracteres no presentó diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) en los estados de madurez subsecuentes. El desarrollo de los cálices siguió un comportamiento similar al de los frutos y vegetales que muestran una curva sigmoide simple (Cruz *et al.*, 2007), con un crecimiento gradual en los primeros días de desarrollo para posteriormente mantenerse casi constante. La disminución en la velocidad de crecimiento de los cálices entre los días 20 y 24 después de la floración se podría considerar como un indicador cronológico para el corte, ya que se considera que al reducirse el crecimiento se abre paso a otros procesos fisiológicos que conducen a la senescencia y al deterioro por factores bióticos y abióticos.

which favors the growth of fungi, with a 20-40 % loss in the quality of the calyces; it is therefore recommended that harvesting be carried out in accordance with calyx maturity.

Chemical characteristics of dry matter

Dry matter content in the calyces of the three roselle ecotypes ranged from 17.86 to 10.46 % (Figure 3). Analysis of variance showed significantly high effects by ecotype, maturity stage and the interaction between the two factors ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.90$), with a coefficient of variation of 17.7 (Table 1), indicating that this parameter was very variable among the samples analyzed (Figure 3), perhaps due to the constant changes in dry matter distribution among different organs during plant development. The multiple comparison of means indicated that dry matter content was significantly higher (Tukey, $P \leq 0.05$) for the Criolla ecotype, averaging 13.26 %. Average dry matter content in the calyces was higher on the day of flowering (stage 1) than at the end of their development, with significant differences only for stages 1 and 2 (Table 2). The Reina ecotype showed a gradual decrease in dry matter content from stage 1 to 9 (15.23 and 10.42 %, respectively), with slight fluctuations with no significant differences from stage 2; China recorded the lowest dry matter content (10.11 %) in stage 7, with a non-significant increase at the end of calyx development, while Criolla underwent a rapid decrease in dry matter content from stage 1 to 3 (17.83 to 11.49 %, respectively) and then showed marked fluctuations in subsequent maturity stages.

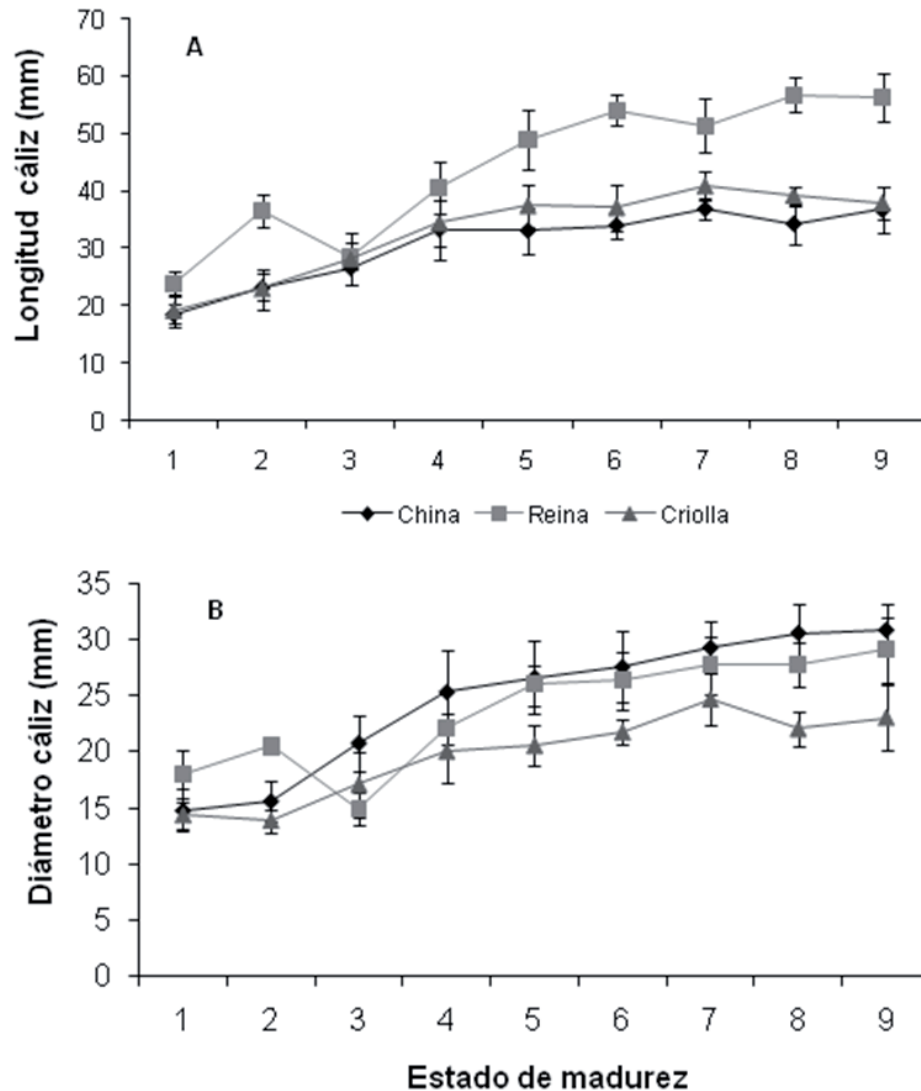


FIGURA 2. Cambios en longitud (A) y diámetro (B), en cálices de jamaica de los ecotipos China, Reina y Criolla en nueve estados de madurez: Estado 1 (día de la floración); Estado 2 (cuatro días después de la floración); Estado 3 (ocho días); Estado 4 (12 días); Estado 5 (16 días); Estado 6 (20 días); Estado 7 (24 días); Estado 8 (28 días) y Estado 9 (32 días después de la floración).

FIGURE 2. Changes in length (A) and diameter (B) in roselle calyces of the ecotypes China, Reina and Criolla in nine stages of maturity: Stage 1 (day of flowering); Stage 2 (four days after flowering); Stage 3 (eight days); Stage 4 (12 days); Stage 5 (16 days); Stage 6 (20 days); Stage 7 (24 days); Stage 8 (28 days); Stage 9 (32 days after flowering).

A este respecto, Arbex *et al.* (2004) señalan que muchos de los cálices que se cosechan hasta el final del ciclo se pasan del punto de cosecha y se tornan senescentes, lo que favorece el crecimiento de hongos, con pérdidas en la calidad de los cálices desde 20 hasta un 40 %, por lo que recomiendan que la cosecha se realice conforme los cálices maduren.

Características químicas de la materia seca.

El contenido de materia seca en los cálices de los tres ecotipos de jamaica varió desde 17.86 a 10.46 % (Figura 3). El análisis de varianza mostró efectos altamente significativos por ecotipo, estado de madurez y la interacción entre ambos factores ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.90$), con un coeficiente de variación de 7.17 (Cuadro 1), lo que indicó que este parámetro fue muy variable entre las

The decrease in dry matter content after the day of flowering and the variability observed during calyx development may be because during anthesis there was a demand for nutrients and photoassimilates that resulted in the accumulation of dry matter, and during post-anthesis the development of calyces competed with the distribution of these photoassimilates which went to the formation of new flowers and seed filling. As noted by Peil and Galvez (2005), assimilates produced by photosynthesis in source organs (mainly leaves) can be stored or distributed via phloem among the different demand organs in a plant. Dry matter distribution is closely related to this source-demand system and can change during crop development; in the reproductive stage, flower buds, flowers, fruits and seeds have priority for the photoassimilates (Arevalo *et al.*, 2007). One must also consider that the strength of these demand

muestras que se analizaron (Figura 3), debido quizás a los constantes cambios en la distribución de materia seca entre los diferentes órganos durante el desarrollo de una planta. La comparación múltiple de medias indicó que el contenido de materia seca fue significativamente mayor (Tukey, $P \leq 0.05$) para el ecotipo Criolla con un valor medio de 13.26 %. El contenido medio de materia seca en los cálices fue mayor el día de la floración (estado 1) que al final de su desarrollo con diferencias significativas sólo para los estados 1 y 2 (Cuadro 2). En el ecotipo Reina se observó un descenso gradual en el contenido de materia seca desde el estado 1 hasta el 9 (15.23 y 10.42 %,

organs and consequently their size depends on, among other factors, their location relative to the source and their position in the plant. Thus, in fruits and vegetables that occur in clusters, distal flowers are subjected to a double competition for photoassimilates within and among inflorescences, which generates differential growth among fruits. Dry matter distribution can be controlled by modifying the strength of these sinks with practices such as: fruit thinning which, by reducing their number, channels photoassimilates to the remaining fruits, increasing their weight and size (Peil and Galvez, 2005); selective removal of spikelets in the sorghum inflorescence to increase seed filling and yield

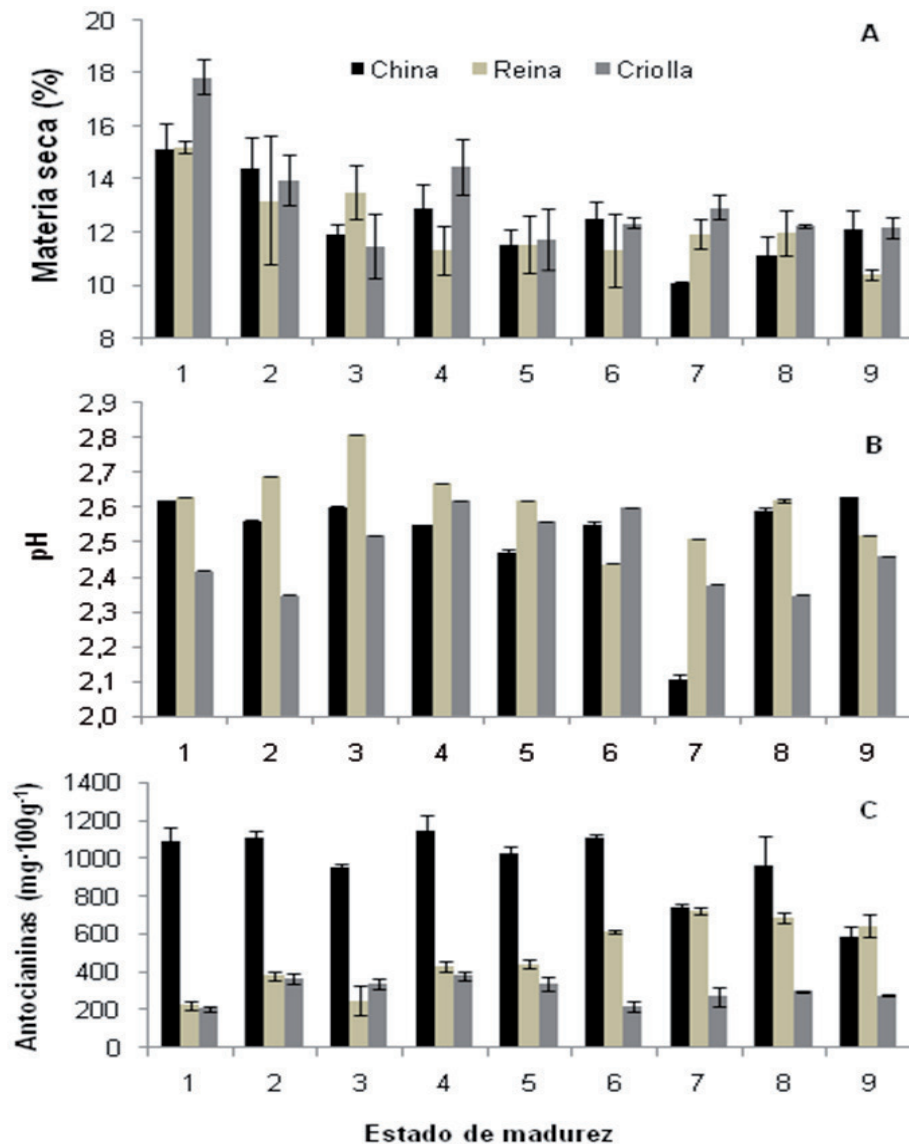


FIGURA 3. Cambios en: materia seca (A); pH (B) y contenido de antocianinas (C) en los cálices de jamaica de los ecotipos China, Reina y Criolla en nueve estados de madurez: Estado 1 (día de la floración); Estado 2 (cuatro días después de la floración); Estado 3 (ocho días); Estado 4 (12 días); Estado 5 (16 días); Estado 6 (20 días); Estado 7 (24 días); Estado 8 (28 días) y Estado 9 (32 días después de la floración).

FIGURE 3. Changes in: dry matter (A), pH (B) and anthocyanin content (C) in the calyces of the roselle ecotypes China, Reina and Criolla in nine maturity stages: Stage 1 (day of flowering); Stage 2 (four days after flowering); Stage 3 (eight days); Stage 4 (12 days); Stage 5 (16 days); Stage 6 (20 days); Stage 7 (24 days); Stage 8 (28 days); Stage 9 (32 days after flowering).

CUADRO 2. Prueba de comparaciones múltiples para longitud, diámetro, materia seca, pH y contenido de antocianinas en cálices de tres ecotipos de jamaica que se evaluaron en nueve estados de madurez.

TABLE 2. Multiple comparison test for length, diameter, dry matter, pH and anthocyanin content in calyces of three roselle ecotypes assessed in nine stages of maturity.

ED	Longitud (mm)			Diámetro (mm)			Materia seca (%)			pH			Contenido antocianinas (mg·100 g ⁻¹ de cáliz seco)		
	China	Reina	Criolla	China	Reina	Criolla	China	Reina	Criolla	China	Reina	Criolla	China	Reina	Criolla
1	18.61 ^d	23.97 ^e	19.13 ^c	14.85 ^c	17.82 ^e	14.38 ^{bc}	15.16 ^a	15.23 ^a	17.83 ^a	2.62 ^{ab}	2.63 ^d	2.42 ^f	1084.44 ^a	227.55 ^d	205.96 ^d
2	23.23 ^{cd}	36.55 ^{cd}	22.94 ^c	15.69 ^c	20.48 ^{ed}	13.89 ^d	14.45 ^{ab}	13.21 ^{ab}	13.97 ^{bc}	2.56 ^d	2.69 ^b	2.35 ^h	1110.50 ^a	379.85 ^c	367.58 ^{ab}
3	23.33 ^{bcd}	28.69 ^{de}	28.13 ^{bc}	20.88 ^{bc}	14.43 ^{cde}	17.06 ^{bcd}	11.91 ^{cd}	13.50 ^{ab}	11.49 ^d	2.60 ^{bc}	2.81 ^a	2.52 ^d	954.14 ^{ab}	248.56 ^d	248.56 ^{abc}
4	33.32 ^{ab}	40.55 ^{bc}	34.36 ^{ab}	25.44 ^{ab}	22.07 ^{bcd}	20.07 ^{abcd}	12.93 ^{bc}	11.33 ^b	14.49 ^b	2.55 ^d	2.67 ^c	2.62 ^a	1141.57 ^a	432.97 ^c	382.36 ^a
5	33.09 ^{abc}	48.94 ^{ab}	37.23 ^{ab}	26.74 ^{ab}	26.06 ^{abc}	20.64 ^b	11.56 ^{cd}	11.54 ^b	11.75 ^d	2.47 ^e	2.62 ^e	2.56 ^c	1029.31 ^a	443.75 ^c	336.26 ^{abc}
6	34.03 ^a	54.44 ^a	37.08 ^{ab}	27.66 ^{ab}	26.25 ^{abc}	21.82 ^{ab}	12.56 ^{bc}	11.33 ^b	12.36 ^{cd}	2.55 ^d	2.44 ^h	2.60 ^b	1110.75 ^a	609.87 ^b	220.24 ^d
7	36.83 ^a	51.50 ^{ab}	40.79 ^a	29.39 ^a	27.70 ^{ab}	24.73 ^a	10.11 ^d	11.92 ^{ab}	12.94 ^{bcd}	2.11 ^f	2.51 ^g	2.38 ^g	743.42 ^{bc}	724.13 ^a	270.86 ^{cd}
8	34.26 ^a	56.77 ^a	39.14 ^a	30.63 ^a	27.84 ^{ab}	22.15 ^{ab}	11.17 ^{cd}	11.97 ^{ab}	12.24 ^{cd}	2.59 ^c	2.62 ^e	2.35 ^h	957.15 ^a	684.29 ^{ab}	299.17 ^{bc}
9	36.67 ^a	56.36 ^a	37.87 ^a	30.97 ^a	28.89 ^a	23.14 ^{ab}	12.12 ^{cd}	10.42 ^b	12.20 ^{cd}	2.63 ^a	2.52 ^f	2.46 ^e	589.83 ^c	643.95 ^{ab}	276.87 ^{cd}

^zED: estado de madurez

^y Medias de cada variable, en cada ecotipo con la misma letra entre estado de madurez, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una P≤0.05.

^z ED: Spanish acronym for stage of maturity

^y Means of each variable in each ecotype with the same letter within a stage of maturity are equal according to Tukey's test at P≤0.05.

respectivamente), con ligeras fluctuaciones sin diferencias significativas a partir del estado 2; para China se registró el valor más bajo de materia seca (10.11 %) en el estado 7 con un aumento no significativo al final del desarrollo de los cálices, mientras que en Criolla se observó un descenso rápido en el contenido de materia seca del estado 1 al estado 3 (17.83 a 11.49 %, respectivamente) y después presentó marcadas fluctuaciones en los estados de madurez subsecuentes.

El descenso en el contenido de materia seca después del día de floración y la variabilidad que se observó durante el desarrollo de los cálices, se debió quizás a que durante la antesis existió una demanda de nutrientes y fotoasimilados que originó una acumulación de materia seca, y durante la post-antesis el desarrollo de los cálices compitió con la distribución de estos fotoasimilados que se dirigieron hacia la formación de flores nuevas y el llenado de semillas. Como lo señalan Peil y Galvez (2005), los asimilados que se producen por la fotosíntesis en los órganos fuente (principalmente las hojas) se pueden almacenar o distribuir vía floema entre los diferentes órganos de demanda en una planta. La distribución de materia seca se relaciona estrechamente con este sistema fuente-demanda y puede cambiar durante el desarrollo de un cultivo; en la etapa reproductiva, los botones florales, las flores, los frutos y las semillas tienen prioridad por los fotoasimilados (Arevalo *et al.*, 2007). También se debe considerar que la potencia de estos órganos de demanda y consecuentemente su tamaño dependen, entre otros factores, de la ubicación de éstos respecto a la fuente y su posición en la planta; así, como en frutos y hortalizas que se dan en racimos, las flores distales se someten a una doble competencia por los fotoasimilados dentro y entre inflorescencias, lo que genera un crecimiento diferenciado entre frutos. La distribución de materia seca se puede controlar si se modifica la potencia de estos sumideros con prácticas como el raleo de frutos que, al reducir el número de los mismos, canalizan los fotoasimilados a los frutos restantes, que aumentan de peso y tamaño (Peil y Galvez, 2005), la eliminación selectiva de espiguillas de la inflorescencia de sorgo para aumentar el llenado y rendimiento de semillas (Valadez *et al.*, 2006) o el desbotonamiento en clavel con el fin de obtener flores de mejor calidad (Arévalo *et al.*, 2007).

Sin embargo, en el cultivo de jamaica se desconoce el impacto que estas prácticas puedan tener sobre el tamaño, rendimiento y la calidad de los cálices. Durante la cosecha, que se realiza al final del ciclo de la planta, se ha observado que los cálices de tamaño mayor se localizan en el tallo y al inicio de las ramas principales y que éstos provienen de las flores precoces, en comparación con los de tamaño menor que provienen de flores tardías. De igual manera, los cálices que provienen de las flores precoces presentan mayor deterioro que aquellos de flores tardías. Ello conlleva a la necesidad de realizar estudios posteriores para analizar las relaciones

(Valadez *et al.*, 2006) or disbudding in carnation to get better-quality flowers (Arevalo *et al.*, 2007).

However, just what impact these practices might have on roselle in terms of calyx size, yield and quality is unknown. During harvest, which occurs at the end of the plant cycle, it has been observed that larger calyces are located on the stem and at the beginning of the main branches and that these come from early flowers, compared with those of smaller size that come from later flowers. Similarly, the calyces of early flowers show greater deterioration than those of late flowers. This leads to the need for further studies to analyze the relationships between dry matter distribution and calyx yield and quality, which would enable estimating physio-technical indices to sustain a continuous harvest of roselle calyces.

Total monomeric anthocyanin content and pH

The pH of the calyx extract in the three roselle ecotypes showed slight variations during the maturity stages analyzed, with values ranging from 2.11 to 2.81 (Figure 3). Similar pH values in extracts of domestic and imported roselle calyces were obtained by Galicia *et al.* (2008). The ANOVA results for this variable (Table 1) showed significant effects by ecotype, maturity stage and the interaction between the two factors ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.99$) mainly due to differences among the ecotypes. Criolla calyces are more acidic, with mean pH of 2.47, compared with the other two ecotypes. It was observed that the pH of the extracts varied constantly during calyx development in the three ecotypes, and only agreed in that they showed an appreciable and statistically significant decrease (Tukey, $P \leq 0.05$) 24 days after flowering (stage 7) for China (from 2.55 to 2.11) and for Criolla (from 2.60 to 2.38) (Table 2). In the Reina ecotype, pH decreased from 2.62 to 2.44, 20 days after flowering (stage 6). However, these results should be viewed on the basis that pH is a value that expresses, on a logarithmic scale, the presence of organic acids in ionic form, so small differences are directly related to changes in the concentration of the major organic acids reported in roselle, such as citric acid, malic acid, tartaric acid and hibiscus acid, and all of them are actively involved in primary metabolism (Ali *et al.*, 2005), which results in constantly changing their concentrations.

Of all the variables assessed, anthocyanin content was the parameter with the greatest variation, with values from 205.93 to 1110.74 mg/100 g⁻¹ of dried calyces (Figure 3). The analysis of variance of the anthocyanin content data showed that there were highly significant effects (Table 1) by ecotype, maturity stage and the interaction between the two factors ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.97$). This means that the production of anthocyanins during calyx maturation was expressed differentially in the three ecotypes assessed. The multiple comparison of means (Tukey, $P \leq 0.05$) indicated that the China calyces showed the highest concentration of anthocyanins with a mean value of 1006.05

entre la distribución de materia seca con el rendimiento y la calidad de los cálices, que permitan estimar índices fisiotécnicos que sustenten una cosecha continua de los cálices de jamaica.

Contenido total de antocianinas monoméricas y pH

El pH del extracto de los cálices en los tres ecotipos de jamaica presentó ligeras fluctuaciones durante los estados de madurez que se analizaron, con valores entre 2.11 a 2.81 (Figura 3). Valores similares de pH en extractos de cálices de jamaica nacional e importada fueron obtenidos por Galicia *et al.* (2008). Los resultados del ANOVA para esta variable (Cuadro 1) mostraron que existen efectos significativos por ecotipo, estado de madurez y la interacción entre los dos factores ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.99$) debido principalmente a las diferencias entre los ecotipos. Los cálices de Criolla son más ácidos, con un valor medio de pH de 2.47, comparado con los otros dos ecotipos. Se observó que el pH de los extractos varió de modo constante durante el desarrollo de los cálices de los tres ecotipos, y sólo coincidieron en que presentaron un descenso apreciable y estadísticamente significativo (Tukey, $P \leq 0.05$) 24 días después de la floración (estado 7) para China de 2.55 a 2.11 y para Criolla de 2.60 a 2.38 (Cuadro 2). En el ecotipo Reina el pH desciende de 2.62 a 2.44, 20 días después de la floración (estado 6). Sin embargo, estos resultados se deben considerar en función de que el pH es un valor que expresa, en una escala logarítmica, la presencia de ácidos orgánicos en su forma iónica, por lo que diferencias pequeñas se relacionan directamente con los cambios en la concentración de los ácidos orgánicos principales reportados en jamaica como son el ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico y ácido hibisco y que todos ellos participan activamente en el metabolismo primario (Ali *et al.*, 2005), lo que origina que su concentración cambie constantemente.

De todas las variables evaluadas, el contenido de antocianinas fue el parámetro con mayor variación con valores desde 205.93 hasta 1110.74 mg·100 g⁻¹ de cálices secos (Figura 3). El análisis de varianza de los datos del contenido de antocianinas mostró que hubo efectos altamente significativos (Cuadro 1) por ecotipo, estado de madurez y la interacción entre ambos factores ($P \leq 0.01$, $R^2 = 0.97$). Esto significa que la producción de antocianinas durante la maduración de los cálices se expresó de manera diferencial en los tres ecotipos que se evaluaron. La comparación múltiple de medias (Tukey, $P \leq 0.05$) indicó que los cálices de China presentaron el mayor contenido de antocianinas con un valor medio de 1006.05 mg·100g⁻¹, los de Reina tuvieron un valor intermedio (488.10 mg·100g⁻¹) y los de Criolla el valor medio menor (299.90 mg·100g⁻¹). Durante el desarrollo de los cálices, el contenido de este pigmento en el ecotipo China se mantuvo alto desde el estado 1 hasta el estado 6 sin diferencias significativas

mg·100g⁻¹, followed by Reina with an intermediate value (488.10 mg·100g⁻¹) and lastly Criolla with the lowest value (299.90 mg·100g⁻¹). During calyx development, the content of this pigment in the China ecotype remained high from stage 1 to 6 with no significant differences among them (Table 2) and then decreased, while Reina had a gradual increase in this pigment from stage 1 to 7, except in stage 3, and also later decreased with no significant differences in the subsequent stages. There was greater variability in the production of this pigment in the Criolla ecotype, compared with the other ecotypes; it peaked in stage 4, fell in stage 6 and then increased slightly with no significant differences in the last calyx development stages.

Differences in anthocyanin content between varieties and maturity stages were reported by Christian and Jackson (2010) in plants grown in the Caribbean, where they found that the anthocyanin content in dark red calyces decreased from flowering to seven days after flowering and then increased again, which differs from the results obtained in this study. In studies of roselle plants grown in Egypt, Reifa *et al.* (2005) also report that anthocyanin content in calyces increases according to flower age, peaking at 60 days and thereafter decreasing slightly when the seeds are ripe. The differences observed in these studies show that anthocyanin production in roselle calyces is influenced by, among other things, the varieties used and the locations where they are grown. As pointed out by Jaakola *et al.* (2002), anthocyanin biosynthetic pathways are highly regulated at the gene level, but also respond to different developmental and environmental signals. In blueberry (*Vaccinium myrtillus*), the expression of genes is high during flowering and the fruit ripening stage, and decreases during fruit senescence.

In the roselle crop, anthocyanin production was also evident during flowering and was expressed in different plant organs such as the stem, leaves, fruits and flowers from which the calyces come from. In these, it was observed that the production of this pigment continued in the early development stages and then decreased between 20 to 24 days after flowering, so it was concluded that this may be the optimal time to harvest roselle calyces.

In order to determine whether there was any association between the size and chemical characteristics of the calyces, Pearson's correlation coefficients were calculated. The results showed that only calyx length and anthocyanin content had a highly significant correlation ($r = 0.87$, $P = 0.0001$); therefore, it was concluded that calyx length could be used as a practical harvest indicator for roselle calyces.

CONCLUSIONS

The Reina ecotype had the longest calyces and China the largest diameter. Calyx growth, both in diameter and length, showed a simple sigmoidal-type pattern, with a significant progressive increase up to 20 to 24 days after flowering (maturity stages 6 and 7, respec-

entre ellos (Cuadro 2) posteriormente hubo un descenso, mientras que en Reina se produjo un aumento gradual de este pigmento desde el estado 1 hasta el estado 7, excepto en el estado 3, que posteriormente también descendió sin diferencias significativas en los estadios subsecuentes. En el ecotipo Criolla se observó mayor variabilidad en la producción de este pigmento en relación con los otros dos ecotipos, presentó un pico máximo en el estado 4, descendió en el estado 6 y posteriormente presentó un ligero aumento sin diferencias significativas en los últimos estadios de desarrollo de los cálices.

Diferencias en el contenido de antocianinas entre variedades y estado de madurez fueron reportadas por Christian y Jackson (2010) en plantas que se cultivan en el Caribe, donde señalan que en los cálices rojo oscuro el contenido de antocianinas disminuye desde la floración hasta siete días después de la floración y después se incrementa nuevamente, lo cual difiere de lo obtenido en este estudio. En estudios realizados con plantas de jamaica cultivadas en Egipto, Reifa *et al.* (2005) también coinciden en señalar que el contenido de antocianinas de los cálices se incrementa de acuerdo a la edad de la flor, alcanzando su pico máximo a los 60 días y posteriormente empieza a descender ligeramente cuando las semillas están ya maduras. Las diferencias observadas en estos estudios evidencian que la producción de antocianinas en los cálices de jamaica se ve influida, entre otros factores, por las variedades que se utilizan y las localidades donde se cultivan. Como lo señalan Jaakola *et al.* (2002), las rutas de biosíntesis de antocianinas están altamente reguladas a nivel de genes, pero también responden a diferentes señales del desarrollo y ambientales. En arándano (*Vaccinium myrtillus*) la expresión de los genes es alta durante la floración y la etapa de maduración de los frutos, y desciende durante la senescencia de los mismos.

En el cultivo de jamaica la producción de antocianinas también fue evidente durante la floración y se manifestó en diferentes órganos de la planta como el tallo, las hojas, los frutos y las flores de donde provienen los cálices. En éstos, se observó que la producción de este pigmento continuó en los estadios iniciales de su desarrollo y disminuyó entre 20 a 24 días después de la floración, por lo que se consideró que este tiempo puede ser el óptimo para la cosecha de los cálices de jamaica.

Con el objetivo de determinar si existió alguna asociación entre el tamaño y las características químicas de los cálices, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson. Los resultados mostraron que sólo la longitud del cáliz y el contenido de antocianinas presentaron una correlación altamente significativa ($r=0.87$, $P=0.0001$), por lo que se consideró que la medición de la longitud de los cálices podría utilizarse como un indicador de cosecha práctico para los cálices de jamaica.

tively), after which the increase in calyx size was no longer significant. Anthocyanin production during calyx ripening was expressed differentially in the three ecotypes; China showed the highest content of this pigment from flowering (stage 1) to stage 6, while in Reina it increased gradually until stage 7 and in Criolla it peaked in stage 4. Anthocyanin content decreased after 20 to 24 days of flowering. Dry matter content decreased as calyx ripening progressed and pH showed slight fluctuations. Based on these observations, it was estimated that calyces reach maturity at 20 to 24 days after flowering, and so this may be the optimal time for harvesting them.

End of English Version

CONCLUSIONES

El ecotipo Reina tuvo cálices de longitud mayor, y China los de diámetro mayor. El crecimiento de los cálices, tanto en diámetro como en longitud, presentó un patrón de tipo simple sigmoideal, con un aumento progresivo significativo hasta 20 a 24 días después de la floración (estado de madurez 6 y 7, respectivamente), después del cual el aumento de tamaño del cáliz ya no fue significativo. La producción de antocianinas durante la maduración de los cálices se expresó de manera diferencial en los tres ecotipos; China presentó el contenido más alto de este pigmento desde la floración (estado 1) hasta el estado 6, en Reina aumentó gradualmente hasta el estado 7 y Criolla presentó un pico máximo en el estado 4. El contenido de antocianinas disminuyó después de 20 a 24 días de la floración. El contenido de materia seca descendió conforme progresó la maduración de los cálices y el pH presentó ligeras fluctuaciones. Con base en estas observaciones, se estimó que de 20 a 24 días después de la apertura de la flor los cálices han alcanzado su madurez, y este tiempo puede ser el óptimo para su cosecha.

LITERATURA CITADA

- ANÓNIMO. 2000. Producción ecológica de hibisco. *In*: Agricultura orgánica en el Trópico y Subtrópico. Guía de 18 cultivos. Fundamentos de la Agricultura Orgánica. Asociación Naturland. Gräfelfing, Germany. pp. 234-243.
- ANÓNIMO. 2007. Estudio de Inteligencia de Mercados: México. Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Centro de Promoción de Exportaciones (NICAEXPORT). Managua, Nicaragua. 26 p.
- ACOSTA, A. G. 1999. Aspectos generales del kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), en Cuba. *Temas de Ciencia y Tecnología* 7: 3-31.
- ADANLAWO, I. G.; AJIBADE, V. A. 2006. Nutritive value of the two varieties of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces soaked with wood ash. *Pakistan Journal of Nutrition* 5(6): 555-557.
- ALI, B. H.; WABEL, N. A.; BLUNDEN, G. 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.; A Review. *Phytotherapy Research* 19: 369-375.

- ARÉVALO, G. A.; IBARRA, D. A.; FLOREZ, V. J. 2007. Desbotone en diferentes estadios de desarrollo del botón floral en clavel estándar (*Dianthus caryophyllus* L.) var. Nelson. *Agronomía Colombiana* 25(1): 73-82.
- ARBEX, C. N. E.; PEREIRA, P. J. E. B.; GRAÇAS, C. M.; RAMALHO, M. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; GUIMARÃES, S. F.; DELÚ, F. N. 2004. Planting time for maximization of yield of vinegar plant calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Ciênc. Agrotec., Lavras* 38(3): 542-551.
- BHAJANTRI, C. M.; MUMMIGATTI, U. V.; DODDAMANI, M. B. 2007. Correlation studies in mesta genotypes. *Karnataka Journal Agricultural Sciences* 20(2): 368-369.
- CARO-VELARDE, F. J.; FLORES-BERRIOS, E. P.; MACHUCA-SÁNCHEZ, M. L. 2010. El Cultivo de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Nayarit. Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic, México. 103 p.
- CHRISTIAN, K. R.; JACKSON, J. C. 2010. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* L.) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 663-667.
- CRUZ-CASTILLO, J. G.; DEL ÁNGEL-CORONEL, O. A.; DE LA CRUZ-MEDINA, J.; JOAQUÍN-MARTÍNEZ, M. C. 2007. Características morfológicas y bioquímicas de frutos de chinene (*Persea schiedeana* Nees). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 13(2): 141-147.
- DUKE, J. A.; JOBOGENSHUTZ-GODWIN, M.; DUCCELLIER, J.; DUKE, P. A. 2003. *Handbook of Medicinal Spices*. CRC Press LLC. New York, USA. 348 p.
- GALICIA-FLORES, L. A.; SALINAS-MORENO, Y.; ESPINOZA-GARCÍA, B. M.; SÁNCHEZ-FERIA, C. 2008. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14(2): 121-129.
- GIUSTI, M.; WROLSTAD, R. E. 2001. Characterization and Measurement of anthocyanins by UV-Vis-espectroscopy, unit F1.2.1-13. *In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. WROLSTAD, R.E. (ed.). John Wiley & Sons, Inc. New York, NY.
- HIDALGO-VILLATORO, S. G.; CIFUENTE-REYES, W. A. L.; RUANO-SOLÍS, H.; CANO-CASTILLO, L. E. 2009. Caracterización de trece genotipos de rosa de jamaica *Hibiscus sabdariffa* L. en Guatemala. *Agronomía Mesoamericana* 20(1): 101-109.
- IBRAHIM, M. M.; HUSSEIN, R.M. 2006. Variability, heritability and genetic advance in some genotypes of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *World Journal of Agricultural Sciences* 2(3): 340-345.
- JAAKOLA, L.; MAATTA, K.; PIIRTTILA, A. M.; TORRONEN, R.; KARENLAMPI, S.; HOHTOLA, A. 2002. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. *Plant Physiology* 130: 729-734
- MAGANHA, G. E.; DA COSTA, H. R.; MOREIRA, R. R.; PEGAS, H. J. A.; LIA DE PAULA, R. A. L.; SAFFI, J. 2010. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. *Food Chemistry* 118: 1-10.
- MORTON, J. 1974. Renewed interest in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), the long forgotten "Florida Cranberry". *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 87, 415-425.
- PEIL, R. M.; GALVEZ, J. L. 2005. Reparto de materia seca como factor determinante de la producción de las hortalizas de fruto cultivadas en invernadero. *R. Bras. Agrobiociência* 11(1):5-11.
- REIFA, A. H.; HEMMAT, K. I. K.; HALA, M. S. B.; MERVAT, S. S. 2005. Increasing the active constituents of sepals of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) plant by applying gibberellic acid and benzyladenine. *Journal of Applied Sciences Research* 1(2):137-146
- RUELAS-HERNÁNDEZ, P. G.; CARO-VELARDE, F. J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, R.; VALDIVIA-BERNAL, R. 2008. Aptitud combinatoria y heterosis en un cruzamiento dialélico en jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14(3): 325-330.
- RUIZ, R. P. 2001. Gravimetric Determination of Water by Drying and Weighing, unit A1.1.1-6. *In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. RUIZ, R.P. (ed.). John Wiley & Sons, Inc. New York, NY.
- VALADEZ-GUTIÉRREZ, J.; MENDOZA-ONOFRE, L. E.; VAQUERA-HUERTA, H.; CÓRDOVA-TÉLLEZ, L.; MENDOZA-CASTILLO, M. C.; GARCÍA-DE LOS SANTOS, G. 2006. Raleo de flores, rendimiento de semilla y distribución de materia seca post-antesis en sorgo. *Agrociencia* 40(3): 303-314.
- VAIDYA, K. R. 2000. Natural cross-pollination in roselle *Hibiscus sabdariffa* L. (*Malvaceae*). *Genetic and Molecular Biology* 23 (3): 667-669.