

Identificación y biocontrol *in vitro* de *Pestalotiopsis* sp. patógeno de Mamey.

OCHOA-Janio Ricardo†, AYVAR-Sergio*, DÍAZ-José Francisco, ALVARADO-Omar Guadalupe.

Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero.

Universidad Autónoma Chapingo

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía.

Recibido: Agosto, 22, 2017; Aceptado Febrero 9, 2018

Resumen

Pestalotiopsis sp. es uno de los patógenos con más presencia en el cultivo de mamey en el municipio de Cuetzala del Progreso Gro. Los objetivos de la presente investigación, fueron identificar por medio de características morfológicas y patogénicas al patógeno asociado a la macha foliar en el cultivo de Mamey, además de probar en condiciones *in vitro* la efectividad biológica de cepas de *Trichoderma* spp. Se identificó morfológicamente a *Pestalotiopsis* sp. como patógeno foliar de mamey. Se determinó que el aislamiento es patogénico porque provoca síntomas en hojas de mamey. Todas las especies *Trichoderma* spp., presentan efecto fungistático sobre *Pestalotiopsis* sp. La cepa nativa originaria de Cuetzala registró el menor crecimiento del patógeno y la mayor inhibición en condiciones *in vitro*.

Palabras clave: Antibiosis, *Trichoderma* spp., *Pestalotiopsis* sp., *Pouteria sapota*.

Abstract

Pestalotiopsis sp. is one of the pathogens with more presence in the mamey crop in the municipality of Cuetzala del Progreso Gro. The objectives of the present investigation were to identify, by means of morphological and pathogenic characteristics to the pathogen associated to the leaf blight in the Mamey crop, besides proving *in vitro* conditions the biologic effectiveness of strains of *Trichoderma* spp. Morphologically, *Pestalotiopsis* sp. as a mamey leaf pathogen. Isolation was determined to be pathogenic because it causes symptoms on mamey leaves. All species *Trichoderma* spp., Present fungistatic effect on *Pestalotiopsis* sp. The native strain from Cuetzala recorded the lowest growth of the pathogen and the highest inhibition in *in vitro* conditions.

Key words: Antibiosis, *Trichoderma* spp., *Pestalotiopsis* sp., *Pouteria sapota*.

Citación: OCHOA-Janio Ricardo†, AYVAR-Sergio*, DÍAZ-José Francisco, ALVARADO-Omar Guadalupe.

Identificación y biocontrol *in vitro* de *Pestalotiopsis* sp. patógeno de Mamey. Foro de Estudios sobre Guerrero. 2019, mayo 2018 - abril 2019 Vol. 6 No. 1 624 - 632

*Correspondencia al Autor: ayvarsernas@hotmail.com

† Investigador contribuyendo como primer autor

Introducción

Los frutales exóticos constituyen desde hace varias décadas son una fuente inagotable de riquezas por su aceptación en varias regiones del mundo y por los elementos nutritivos que aportan a la salud humana (FAO, 1996), los frutos tienen propiedades funcionales debido a sus vitaminas y minerales. Además del contenido de compuestos fenólicos y consecuentemente su actividad antirradical dentro de ellos se encuentra el zapote mamey, el cual ocupa un lugar importante dentro de estos frutos conocidos como exóticos (Popenoe, 1948).

El mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore y Stearn) se cultiva en los países que conforman el centro de origen y diversidad de la especie, entre ellos México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Costa Rica, Cuba y EE. UU. (Azurdiá, 2006). En México, en el año 2011 se cultivaron 1702 ha con una producción estimada de 16 357 t. Las entidades federativas con mayor superficie y producción fueron Yucatán (492 ha y 9448 t), Guerrero (390 ha y 2270 t) y Michoacán (234 ha y 673 t) (SIAP, 2011). *P. sapota* se considera como una de las frutas exóticas, así como también una de las más deliciosas frutas del continente americano (SAGARPA, 2017), es un árbol nativo de la selva tropical. Se distribuye desde el sur de México hasta Nicaragua, y ha sido introducida a otros países. Los frutos son apreciados en el mercado nacional en México (Ricker, 2001).

Explicó que en Guerrero el mamey se cultiva en una superficie de 388 hectáreas en los municipios de Alpoyecá y Huamuxtlán, con una producción cercana a las dos mil 367 toneladas, las cuales se comercializan en la Central de Abastos del Distrito Federal y el estado de Puebla. La producción de mamey genera una derrama económica para la entidad de 14 millones 785 mil pesos, siendo Guerrero el segundo estado con mayor superficie de hectáreas sembradas (Yucatán 27 por ciento, Guerrero 25%, Chiapas 10%, Michoacán 9% y Tabasco 7%) (SAGARPA, 2017).

El fruto del árbol de zapote mamey es consumido en fresco y es muy apreciado por sus características organolépticas, Popenoe (1948) indica que el centro de origen del zapote Mamey es el sur de México y las tierras bajas de Centroamérica. En México se encuentra distribuido en todas las zonas tropicales, como parte integrante de la selva alta perennifolia, o cultivado con otros frutales, en huertas de poca extensión (Toral, 1988).

Entre las enfermedades más importantes que afectan a este cultivo se encuentra la mancha foliar (*Pestalotia* sp.) la cual daña las hojas jóvenes, flores, y los frutos, afectando en un 70 % el rendimiento. Otra enfermedad de importancia que acata a este cultivo es la antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides* Penz) la cual provoca síntomas parecidos a los que provoca *Pestalotia*. El alga roja (*Cephaleuros virescens* Kunze) puede atacar las ramitas y las hojas causando la muerte regresiva.

La mejor alternativa para luchar contra esta enfermedad, es el manejo integrado; porque nos permite utilizar en forma conjunta prácticas culturales, biológicas, químicas y entre otras; sin embargo, el método preferido por los agricultores es la aplicación de fungicidas sintéticos porque dan resultados a corto plazo, así como la fácil accesibilidad para adquirirlos, y permiten incrementar la cantidad, calidad y rentabilidad de las cosechas. Pero este método de control no garantiza la inocuidad de los productos alimenticios; porque, es uno de los principales contaminantes del medio ambiente y la causa de cáncer para el ser humano.

Por estas desventajas, ha tomado mayor importancia la utilización del control biológico mediante la utilización de organismos benéficos como el género *Trichoderma*, que es un excelente agente biocontrolador debido a su fácil aislamiento, cultivo rápido y multiplicación en varios sustratos y porque actúa mediante competencia directa, antibiosis y micoparasitismo, contra diversas especies de hongos fitopatógenos, entre ellos *Pestalotiopsis* sp.

Además tiene la habilidad para estimular el crecimiento de la raíz y activar el sistema de defensa las plantas.

Se ha demostrado que las especies de *Trichoderma* son capaces de producir compuestos bioquímicos volátiles y no volátiles y enzimas como celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas, que participan en la lisis de la pared celular de las hifas del hospedante fungoso, facilitando la penetración de estructuras especializadas y de hifas de *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004; Infante *et al.*, 2009; Vinale *et al.*, 2009).

Los objetivos de la presente investigación, fueron identificar por medio de características morfológicas y patogénicas al patógeno asociado a la mancha foliar en el cultivo de Mamey, además de probar en condiciones in vitro la efectividad biológica de cepas de *Trichoderma* spp.

Metodología

Muestreo y material vegetal

En diciembre de 2016, en un huerto de mamey de una superficie de una hectárea, del municipio de Cuetzala del Progreso Gro., localizado al norte del estado de Guerrero, dentro de las coordenadas geográficas 17°56' y 18°18' de latitud norte y los 99°45' y 100°00' de longitud oeste, respecto al meridiano de Greenwich, se colectaron hojas con síntomas de mancha foliar necrótica en la parte del haz y envés (Figura 1).



Figura 1. Hojas con síntomas de mancha foliar en mamey

Asilamiento del patógeno

De hojas infectadas, se cortaron 5 trozos de tejido 0.5 cm² de la zona de avance de la enferma junto con tejido sano, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1.5% por dos minutos, se lavaron tres veces con agua destilada estéril, se hicieron cámaras húmedas, una vez que creció el micelio, este se sembró en medio de cultivo papa destroza agar (PDA) en cajas Petri; se hicieron cuatro repeticiones; se transfirió a PDA en tubo de ensayo, para preservarlo en refrigeración a 5 °C (Singenton *et al.*, 1992).

Identificación morfológica

De la cepa fungosa purificada se tomaron muestras de micelio y esporas, se hicieron preparaciones en lactofenol en porta y cubre objetos, se observaron en el microscopio compuesto las principales características como son: color, septación y forma de los conidios y otros caracteres distintivos que son la base para identificación del patógeno, utilizando las claves ilustradas de Barnett y Hunter (2000) y McKenzie (2013).

Pruebas de patogenicidad

Para comprobar la patogenicidad del aislamiento fungoso, se realizó la inoculación de este en frutos sanos de mamey los cuales se obtuvieron de una huerta libre de la enfermedad de Cuetzala del Progreso Gro., los cuales se lavaron con agua y jabón se limpiaron con alcohol al 80%; se aplicaron las siguientes técnicas: Inoculación de frutos sin heridas. *Discos de PDA + Hongo*: En 2 frutos desinfectados, se colocaron discos de PDA + Hongo (0.5 cm de diámetro) los cuales se cortaron con un sacabocado, colocados en los cuatro puntos cardinales del fruto, mientras que en 1 fruto desinfectado se inoculó con el disco de PDA sin hongo. Inoculación de frutos con heridas. *Con aguja de disección*: Se hicieron perforaciones en dirección de los cuatro puntos cardinales del fruto. En los cuales 2 frutos fueron perforados con PDA + el hongo y el fruto testigo se perforó con solo PDA. *Con el sacabocado*: En 2 frutos se efectuaron, con un "sacabocado" heridas circulares (0.5 cm de diámetro) en los cuatro puntos cardinales del fruto, se desprendió la cascara (epicarpio) y, en su lugar, se colocaron los discos de PDA + Hongo, mientras a el testigo solo se colocó PDA sin el hongo. Inoculación de frutos por aspersión. *Sin heridas*: Con un atomizador manual, se asperjó el inóculo en dos frutos de manera uniforme en la superficie del fruto hasta el punto de goteo; en el testigo solamente se asperjó agua destilada. *Con aguja de disección*: Se pincharon 2 frutos con la aguja de disección flameada, se asperjó el inóculo uniformemente en la parte superficial del fruto hasta el punto de goteo; el testigo pinchado solo se asperjó con agua destilada. *Con sacabocado*: En tres frutos se realizaron perforaciones circulares de 0.5 cm de diámetro en los cuatro puntos cardinales, se desprendió la casca (epicarpio) y en dos frutos se asperjó el inóculo hasta el punto de goteo; en el testigo se asperjó con agua destilada.

Antibiosis de *Trichoderma* spp. contra *Pestalotiopsis* sp.

Este ensayo se realizó para conocer la antibiosis de cepas nativas y comerciales de *Trichoderma* spp. contra *Pestalotiopsis* sp. Se evaluaron los 8 tratamientos indicados en el Cuadro 1.

Diseño y unidad experimental

Los nueve tratamientos se distribuyeron sobre una mesa en el laboratorio, de acuerdo con el diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental fue una caja Petri.

Preparación de PDA

Cuadro 1. *Tratamientos evaluados in vitro contra el agente causal de la mancha foliar de mamey.*

Trat.	Cepa	Ingrediente activo
T1	Testigo	--
T2	Cuetzala	<i>Trichoderma</i> sp.
T3	Cocula	<i>Trichoderma asperellum</i>
T4	Chilapa	<i>Trichoderma asperellum</i>
T5	Santa teresa	<i>Trichoderma asperellum</i>
T6	PHC Rootmate	<i>Trichoderma virens</i>
T7	Fithan	<i>Trichoderma</i> sp.
T8	Bactiva	<i>Trichoderma</i> sp.
T9	PHC T22	<i>Trichoderma harzianum</i>

Se utilizó PDA formulado industrialmente, el cual se preparó con anterioridad, se agregaron dosis de 20 mL por tubo de ensayo de 50 mL de capacidad (32 tubos); a éste se puso tapa de algodón, que se cubrió con otra de papel aluminio sujetada con una liga de hule; se colocaron todos los tubos en una gradilla dentro de la olla de presión, se esterilizaron a 15 libras/pulgada², se vaciaron los 20 mL de PDA de del tubo en la caja Petri; se dejó enfriar y solidificar el medio para utilizarlo en la técnica de papel celofán.

Técnica del papel celofán

Las cepas puras de *Trichoderma* spp. se evaluaron mediante la prueba del celofán (Michel *et al.*, 2014), la cual permite determinar la capacidad de los metabolitos secundarios producidos en el PDA por *Trichoderma* spp., para inhibir o retardar el crecimiento micelial de *Pestalotiopsis* sp. Esta técnica consistió en utilizar papel celofán cortado en discos con un diámetro de 10 cm, de medida similar a la caja Petri; se esterilizó en la olla de presión, se colocó sobre la superficie del PDA dentro de la caja; se transfirió en el centro del papel celofán, un disco de 0.5 cm de PDA con la cepa de *Trichoderma* spp., según el tratamiento.

Las cajas inoculadas se incubaron en el laboratorio por 24 h a temperatura ambiente ($\pm 28^{\circ}\text{C}$), se retiró con precaución el papel celofán con *Trichoderma* spp.; enseguida se sembró el hongo patógeno en el centro de la caja, se incubaron a temperatura ambiente en el laboratorio y se midió cada 48 horas el crecimiento micelial del patógeno, por tratamiento.

Variables de estudio

Para conocer el efecto fungistático de los tratamientos con los metabolitos de *Trichoderma* spp., sobre el desarrollo y crecimiento del hongo investigado, se midieron las variables siguientes.

Diámetro de la colonia del hongo. Se hicieron mediciones cada 48 h durante 15 días.

Porcentaje de inhibición de la colonia del hongo. Se obtuvo tomando en cuenta que en el tratamiento testigo hubo 100% de crecimiento y 0% de inhibición.

Porcentaje de crecimiento de la colonia del hongo. Con base en el diámetro de la colonia, se determinó el porcentaje de crecimiento del hongo por tratamiento.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza de los datos del diámetro de la colonia del hongo de las evaluaciones, utilizando el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS, 2014), de acuerdo al diseño experimental completamente al azar (Steel y Torrie, 1998)

Resultados y discusión

Identificación morfológica

De las muestras de hojas con manchas necróticas, se identificó a nivel genero a *Pestalotia* sp. que se caracteriza por desarrollar micelio blanco algodonoso, que al madurar produce abundantes acervulos negros en disposición radial aleatoria o en círculos concéntricos sobre la superficie de PDA (Figura 2). Los conidióforos hialinos, irregulares ramificados, son septados, lisos y cortos; producen conidios oscuros, rectos o ligeramente curvados, elipsoidales o fusiformes (Figura 3) y que poseen seis células, con la basal y terminales hialinas; la última de estas es puntiaguda con dos o más apéndices apicales hialinos. Estas características morfológicas son similares a las descritas para el género *Pestalotia* por Barnett y Hunter (1998).



Figura 2. Colonia de *Pestalotia* sp. en PDA.



Figura 3. Características morfológicas de los conidios de *Pestalotia* 100X.

Pruebas de Patogenicidad

Se permitió comprobar que el aislamiento purificado de *Pestalotia* sp. es patogénico, esto porque provoca los síntomas típicos de pudrición cuando se inocula en frutos sanos de mamey. Se encontró que la enfermedad se desarrolla en frutos inoculados con PDA + hongo en tejido con heridas del sacabocado, asimismo, los síntomas tardaron de 5 a 8 días en desarrollarse en los frutos inoculados con heridas de sacabocado. Los frutos utilizados como tratamientos testigo, como se esperaba, permanecieron sanos.

Antibiosis de *Trichoderma* spp. contra *Pestalotiopsis* sp.

La variable crecimiento miceliar presentó evidencia altamente significativa ($P < 0.0001$), en todas las fechas de medición del crecimiento de las colonias del patógeno. El crecimiento de la colonia en los tratamientos de estudio fluctuó de 1.08 a 7.88 cm. En el tratamiento testigo, el hongo creció a una tasa de 0.53 cm dia^{-1} , porque a las 360 h alcanzó un diámetro de 7.88 cm.

Las cepas *Trichoderma* sp. (cepa Cuetzala) y *T. asperellum* (Cepa Cocula), registraron el menor crecimiento de micelio de *Pestalotiopsis* sp. en la última evaluación (Cuadro 2); estas dos especies mantuvieron su mayor efectividad de inhibición del patógeno con el 29.4 y 37.7% respectivamente (Cuadro 3).

Al final del ensayo, en los tratamientos *Trichoderma* sp. (cepa nativa Tepecoacuilco), *Trichoderma harzianum* (T-22), *Trichoderma* spp. (Bactiva), *Trichoderma* sp. y *T. asperellum* (cepa Chilpa), se obtuvieron promedios en porcentaje de inhibición de 23.33, 25.43, 18.31, 21.85 y 1.19, de las colonias de *Neopestalotiopsis* sp., respectivamente (Cuadro 3).

La utilización de *Trichoderma* es una estrategia efectiva a largo plazo, porque es necesaria la adaptación y establecimiento del microorganismo benéfico, en los ecosistemas (Hamdia y Kalaivani, 2013); por lo que este género está catalogado entre los agentes de control biológico más eficientes, por su amplio espectro antagonista, la producción de enzimas extracelulares con actividad antibiótica, el parasitismo y la habilidad de incrementar el desarrollo y crecimiento de las plantas, entre otros mecanismos de acción (Benítez *et al.*, 2004; Bae *et al.*, 2011).

Trichoderma spp. produce metabolitos secundarios como enzimas (glucanasas y quitinasas), antibióticos (viridina, gliotoxina o peptaiboles) y micotoxinas (Infante *et al.*, 2009), y estas están directamente relacionadas con el efecto fungistático ejercido por *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos como *Pestalotiopsis* spp. (Barman *et al.*, 2015).

Existen amplios reportes sobre el biocontrol de diferentes hongos fitopatógenos mediante el uso de cepas de *Trichoderma* spp., (Barman *et al.*, 2015; Talla *et al.*, 2015). Sin embargo en *Pestalotiopsis microspora* existe poca información.

Cuadro 2. Comparación de los valores promedios del diámetro de las colonias de *Pestalotiopsis* sp. en la última fecha de evaluación.

Trat.	Cepa	Diámetro de la colonia (cm)
T1	Testigo	7.88 A
T2	Cuetzala	3.06 G
T3	Cocula	4.14 F
T4	Chilapa	4.9 E
T5	Santa teresa	4.8 E
T6	PHC Rootmate	5.4 D
T7	Fithan	5.2 DE
T8	Bactiva	6.76 C
T9	PHC T22	7.2 B

Cuadro 3. Porcentaje de inhibición de las colonias de *Pestalotiopsis* sp. en lo diferentes tratamientos evaluados.

Trat.	Cepa	% de inhibición
T1	Testigo	7.88
T2	Cuetzala	61.16
T3	Cocula	47.46
T4	Chilapa	37.82
T5	Santa teresa	39.08
T6	PHC Rootmate	31.47
T7	Fithan	34.01
T8	Bactiva	14.21
T9	PHC T22	8.63

En diversas investigaciones se ha demostrado la efectividad de numerosas cepas de *Trichoderma*, para inhibir y micoparasitar diferentes hongos fitopatógenos, a través de su actividad fisiológica y bioquímica (Ezziyyani, 2004).

Gonzáles *et al.* (2009) observaron que el hongo antagonista *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz (Biotrol) a dosis de 0.8 g L⁻¹ de agua, logró mantener la enfermedad clavo del guayabo en incidencias de 4%, en comparación con 14% en el tratamiento testigo sin aplicación y presentó mejor efectividad que los fungicidas químicos, bajo condiciones de campo y en época de lluvia.

Mejía (2015) comparó el efecto de diferentes cepas de *Trichoderma* en condiciones de laboratorio. Encontró 100% de inhibición del crecimiento de *Pestalotiopsis microspora* Speg. por efecto de las cepas de *Trichoderma asperellum* (cepa nativa Cocula) y *Trichoderma reesei*; asimismo obtuvo 93% en los tratamientos con *Trichoderma fasciculatum*.

Conclusiones

Se identificó morfológicamente a *Pestalotiopsis* sp. como patógeno foliar de mamey.

Se determinó que el aislamiento es patogénico porque provoca síntomas en hojas de mamey.

Todas las especies *Trichoderma* spp., presentan efecto fungistático sobre *Pestalotiopsis* sp.

La cepa nativa originaria de Cuetzala registró el menor crecimiento del patógeno y la mayor inhibición en condiciones *in vitro*.

Agradecimientos

A la T. L. Duvelsa Camacho Rodríguez del Laboratorio Fitopatología del Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, por la colaboración en la realización del presente estudio.

Referencias

- Azurdia, C. (2006). Tres Especies de Zapote en América Tropical. Southampon Centre for Underutilised Crops, Universidad de Southampon, Southampon, UK. 216 p.
- Bae, H., Roberts, D. P., Lim, S. L., Strem, M. D., Park, S. Ch., Ryu, H. M., Melnick, R. L. Baile, B. A. (2011). Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms molecular Plant-Microbe Interactions. 24 (3): 336–351.
- Barman, H., Aniruddha, R., Kumar-Das, S. (2015). Evaluation of plant products and antagonistic microbes against grey blight (*Pestalotiopsis theae*), a devastating pathogen of tea. African Journal Agricultural Research. 9(18):1263-1267.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (2000). Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Ed. The American Pytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C. and Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology 7: 249-260.
- Ezziyyani, M. (2004). Biocontrol de *Pestalotiopsis microspora* (*Psidium guajava* L.) mediante una combinación de microorganismos antagonistas. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- FAO. (1996). Estadísticas. Organización para la Agricultura y la Alimentación. 1862 p.
- González, G. E., Padilla, R. J. S., Perales, C. M. A. (2009). Estrategias para el manejo del clavo de la guayaba (*Pestalotiopsis psidii*). Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México. 28 pp.
- Hamdia, Z. A. and Kalaivani, N. (2013). Evaluating the Efficacy of *Trichoderma* Isolates and *Bacillus subtilis* as Biological Control Agents Against *Rhizoctonia solani*. Reseach Journal of Applied Sciences 8(1): 72-81.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts, Nature Review 2 43–56.
- Infante, D., Martínez B., González N. y Reyes. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Veg. 24(1): 10-84.
- Mejia, B. E. (2015). Control integrado in vitro de *Pestalotiopsis microspora* (Speg.). Mordue aislado de guayaba. Tesis de Licenciatura. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Centro de Estudios Profesionales. Cocula, Gro. 81 p.
- Popenoe, W. (1948). Manual of tropical and subtropical fruit, Collier-McMillan Publishing, New York, London. Toral J., J. O. 1998. El cultivo de mamey (*Colocarpum sapota*). Escuela Nacional de fruticultura. Xalapa, Veracruz, Mexico, D. F. 40 p.

- Ricker, M. (2001). Manejo y evaluación económica de una especie arbórea de la selva tropical: El «Mamey» (*Pouteria sapota*). In: Plantas, cultura y sociedad estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo XXI. Eds. Rendón, A. B., Rebollar, D. S., Caballero, N. J., Martínez, A. M. A. Alfaro, Universidad Autónoma Metropolitana. 23p.
- SAGARPA (2017). Comité Sistema Producto Mamey de Guerrero, A.C. Chilpancingo Gro. En línea: <http://dev.pue.itesm.mx/sagarpa/estatales/EPT%20COMITE%20SISTEMA%20PRODUCTO%20MAMEY%20GUERRERO/PLAN%20RECTOR%20QUE%20CONTIENE%20PROGRAMA%20DE%20TRABAJO%202012/PR%20Mamey%20Gro.%202012.pdf> {23 de Febrero del 2017.
- SAS Institute Inc. (2014). SASuser's guide: Statistics. Release 6.03. Ed. SAS Institute incorporation, Cary, N.C. USA. 1028 p.
- Street, R. B. 1982. The Diagnosis of Plant Diseases. 7^a impresión. The University of Arizona Press. Tucson Arizona.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2011). Agricultura. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351 (Junio, 2017).
- Singlenton, L. L., Mihail, J. D., Rush, C. M. (1992). Methods for Research on Soil Borne Phytopathogenic Fungi. APS Press. St. Paul, Minesota, USA.264p.
- Steel, G. D. y H. Torrie, J. (1998). Bioestadística: principios y procedimientos. Segunda Edición. McGraw Hill. México, D. F. 392 pp.
- Toral, J. J. O. (1988). El cultivo de mamey (*Calocarpum sapota*). Escuela Nacional de Fruticultura. Xalapa, Veracruz, México, D. F. 40 p.
- Vinale, F., Flematt, G., Sivasithamparam, K., Lorito, M., Marra, R., Skelton, B. W. Ghisalberti, E. L. (2009). Harzianic Acid, an Antifungal and Plant Growth Promoting Metabolite from *Trichoderma harzianum*. Journal of Natural Products 72 2032–2035.