IDENTIFICACIÓN Y PATOGENICIDAD DE HONGOS EN SEMILLA DE PAPAYA (Carica papaya L.)

Jorge A. Romero Rodríguez¹§; José A. Rangel Lucio¹; María Rojas Ramos¹; Raúl Rodríguez Guerra²; Leticia Robles Yerena³
¹Instituto Tecnológico de Roque. Celaya, Gto. ²INIFAP. General Teherán, NL. ³Colegio de Postgraduados-Fitopatología. Montecillo, Edo. de Méx.
§Autor responsable: j_romero2@yahoo.com.mx

Recibido: Noviembre 14, 2012; Aceptado: Abril 10, 2013

RESUMEN

Agentes fitopatógenos de la semilla de papaya, han sido poco documentados a pesar de estar expuesta durante su formación en la planta madre, beneficio y almacenamiento. El estudio tuvo como objetivo identificar y determinar la patogenicidad de hongos infectivos en la semilla almacenada y recién extraída de papaya cv. Maradol. La semilla sin tratar permitió la expresión de hongos contaminantes y el tratamiento con hipoclorito de sodio la de hongos infectivos; la semilla recién extraída no se sometió a tratamiento. La semilla permaneció en agar por 24 y 48 h y las estructuras de lo hongos desarrollados fueron transferidas al medio selectivo PDA acidificado. La identificación de hongos se hizo a nivel género, entre ellos: *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Fusarium*,

Alternaria, Cunninghamella, Aspergillus, Chrysosporium y Trichoderma. Los tres primeros fueron frecuentes en semilla de papaya colectada y almacenada en Veracruz, mientras Fusarium apareció sólo en semilla recién extraída, con o sin sarcotesta. Los resultados sugieren que Fusarium es el primer colonizador de semilla de papaya, por lo que se identificó hasta el nivel de especie: F. oxysporum y F. solani. La inoculación de ambas especies de hongos a la semilla de papaya disminuyó la germinación, provocó necrosis de hipocótilo - raíz y la muerte de plántulas.

Palabras clave: Contaminación e infección de semilla, germinación, plántula de papaya.

INTRODUCCIÓN

La papaya tiene valor económico importante a nivel mundial, por su alta rentabilidad y aceptación del fruto. México se ha ubicado históricamente entre los cuatro principales productores a nivel mundial v a nivel nacional ésta fruta ocupa la sexta posición en la preferencia de los consumidores, y aunque se produce intensivamente en nueve estados del país (De los Santos et al., 2000), Veracruz es el estado con mayor producción (SIAP, 2007). Sin embargo, esto no significa que el cultivo tenga la mayor eficiencia productiva. La forma tradicional de cultivo de papaya en México, tiene como base la producción de plántula en almácigo y posterior trasplante a campo (De los Santos et al., 2000). Los productores generalmente usan semilla que seleccionan de cultivos anteriores, la someten a deshidratación bajo sol y almacenan temporalmente condiciones ambientales baio sombra (AgroChiapas, 2005). Las plántulas emergen entre 10 y 20 d y son aptas para el trasplante cuando tienen un porte de 15 a 20 cm, que adquieren entre 45 y 60 d de edad. En almácigo es común que ocurra germinación incompleta y emergencia irregular, así como incidencia de "secadera" o Damping off, que reduce la población de plantas (Romais et al., 1993; Ramírez et al., 1998).

La plantación definitiva exige plantas vigorosas y sanas; por lo que es necesario resolver aspectos de la semilla relacionados con la calidad fisiológica y sanitaria (UACh, 2002). Esta fase brinda confianza en la semilla empleada; es decir, que el crecimiento de la planta de papaya ocurriría sin problemas sanitarios y el cultivo de papaya en campo aseguraría el rendimiento de fruto. Entre las enfermedades de papaya que se transmiten por semilla se encuentran las causadas por *Erwinia*, que provoca la muerte de plantas y reduce la producción (Gardan et al., 2004; Guevara et al., 1993). Un informe de Bayot et al. (1990) identifica la transmisión de la Mancha Anular del Papayo asociada a la semilla: aunque otros estudios afirman lo contrario (De los Santos et al., 2000). Es posible que los hongos fitopatógenos contaminen o infecten la semilla de papava, al omitirse un manejo sanitario preventivo (Moreno, 1996). La pudrición de semilla, raíces tallo causada por *Phytophthora*, Pvthium. Rhizoctonia y Fusarium, reduce significativamente la población de plantas de papaya, cuando la humedad del suelo es excesiva (Mora y Morales, 1980). Medidas sanitarias apropiadas aumentarían la germinación y posibilidad de éxito del cultivo (Kulik y Schoen, 1977).

La presencia de microorganismos fitopatógenos en semilla de papayo ha sido poco estudiado, a pesar de que ésta se muestra susceptible a ser invadida durante su formación en la planta madre, beneficio y almacenamiento. La causa pudiera ser la gran cantidad de enfermedades de distinta índole que se presentan en la planta (principalmente en fruto), requerimientos de humedad y temperatura de almacenamiento. Experiencias relacionadas con la extracción, secado y almacenamiento de la semilla de papaya al ambiente, demuestra la falta de conoci-

miento técnico para evitar la incidencia de fitopatógenos en semilla de papaya. Del mismo modo, las características químico-morfológicas de la semilla de papaya aumentan el riesgo de contaminación o infección, como la sarcotesta (mucigel) que envuelve a la semilla fresca, o la estructura rugosa de la esclerotesta (Nishina et al., 2004). Con base a lo anterior, se desarrolló el estudio con el objetivo de identificar los hongos patógenos que contaminan o infectan la semilla de papaya Maradol, transmitidos por la planta o el fruto durante el crecimiento o por el manejo postcosecha durante la extracción de la semilla, así como determinar el grado de patogenicidad y riesgo que representan para la siembra comercial en el terreno definitivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó durante los años 2006 y 2007 en el Laboratorio de Sanidad de Semillas del Instituto Tecnológico de Roque y Laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental Bajío del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, ambos en Celaya, Guanajuato, México.

Material vegetal. Para detectar la infección o infestación de organismos fúngicos en la semilla de papaya Maradol, se analizaron varios aspectos de la semilla, tales como condiciones de almacenamiento, presencia o ausencia de sarcotesta, tipo de secado y contenido de humedad.

Semilla almacenada. La semilla almacenada se colectó de parcelas comerciales en producción de papaya Maradol en el mes de mayo de 2006, establecidas en los municipios de Camarón de Tejeda (lote 1), Emiliano Zapata (lote 2) y Puente Nacional (lote 3), todos del estado de Veracruz, México. En la semilla de los lotes 1 y 3, la sarcotesta se desprendió manualmente con la ayuda del agua de la llave y el secado se desarrolló a la sombra por una semana, hasta 9 % de humedad. La semilla del lote 2 se mantuvo completa y se expuso al sol por una semana hasta 10 % de humedad, forma tradicional de beneficio parcial acostumbrada por productores de papaya de Veracruz. Tanto extracción como secado de semilla se realizaron sin medidas sanitarias.

Doscientos cincuenta gramos de semilla de cada lote se agruparon en tela tipo "tul" y almacenaron durante dos meses a temperatura ambiente de un local que varió de 25 a 28 °C y humedad relativa de 70 a 100 %. El ensayo inició el 15 de abril y concluyó el 15 de junio de 2006.

Semilla fresca. Los frutos para esta condición de semilla fue colectado en el mes de marzo de 2007, en los municipios de Emiliano Zapata (lote 4), al cual conservo la sarcotesta, y Puente Nacional (lote 5), al que se le desprendió la sarcotesta, del estado de Veracruz. Los frutos de papaya se lavaron con agua de la llave y enseguida se sometieron a tratamiento con hipoclorito de sodio al 2 % por 2 min (sin enjuagar). El secado de fruto y la extracción de semilla se hizo en un área aséptica (cámara de flujo laminar, Forma Scientific 2818). Para la disección del fruto se empleó un bisturí, esterilizado con alcohol y fuego.

Aislamiento e identificación de hongos. El examen indirecto de hongos internos y externos en semilla almacenada se desarrolló en 10 repeticiones de cinco semillas por lote. Para la detección de hongos internos, la semilla se sometió a inmersión durante 2 min en una solución de hipoclorito de sodio (NaOCI) al 1 % (Alvarez-Pardo et al., 2006), mientras que para lograr la expresión de hongos externos, la semilla se mantuvo sin tratar. De éste modo, las semillas se colocaron equidistantes sobre el medio de cultivo Agar-Agua (AA/20 g L-1) en cajas Petri de 9 x 100 mm. Finalmente se incubaron en estufa Felisa® a 28±1 °C.

Por otro lado, se eligieron al azar 15 semillas frescas y completas, y a otro número similar se le desprendió manualmente la sarcotesta; en cada caso no se aplicó tratamiento alguno y se repitieron cinco veces. Siembra e incubación se realizaron bajo el mismo procedimiento ya descrito para semilla almacenada.

La revisión de cajas Petri se efectuó a 24 y 48 h de la siembra. Se utilizó el método "punta de hifa" para el aislamiento (Contreras de Velásquez y Rondón, 1980), que consiste en transferir segmentos de hifas a cajas Petri con Papa-Dextrosa-Agar (PDA) acidificado (200 µL de ácido láctico al 85 % por litro de agua). Enseguida se incubaron bajo las condiciones empleadas para siembra de semillas almacenadas y frescas. Antes de proceder a la purificación de cepas de organismos, se realizaron observaciones periódicas con la ayuda de microscopio electrónico (LEICA CME®), para apreciar contaminación posible; al existir manifestación de ésta, se realizó la transferencia de estructuras del hongo a cajas Petri con el medio de cultivo indicado.

La identificación se hizo hasta nivel género, con el empleo de las claves de Barnett y Hunter (1998) y sólo a nivel especie las cepas del género *Fusarium*, con las claves de Nelson *et al.* (1983). En el primer caso, las observaciones fueron directas en las colonias crecidas en caja sobre muestras de colonias colocadas en portaobjetos con agua. La identificación de *Fusarium* a nivel especie, tomó como base la velocidad de crecimiento y coloración en PDA y las características microscópicas de colonias crecidas en medios de cultivo Agar Clavel Hoja y Agar Nutriente Sintético.

Ensayo de patogenicidad. Semillas de papaya Maradol se trataron con hipoclorito de sodio al 2 % por 5 min, se enjuagaron con agua estéril en tres ocasiones y secaron en la cámara de flujo laminar. Posteriormente se colocaron en AA/15 g L-1. La semilla se revisó durante 48 h, con el fin de apreciar y eliminar otros organismos contaminantes.

Transcurrido éste tiempo, la semilla se colocó entre dos capas de papel germinador y se humedeció con agua en caja Petri; en cada condición el manejo fue estéril, se usaron 15 semillas por caja y se repitieron cinco veces.

Enseguida, a la semilla se inocularon 10⁶ conidios/mL de cultivos monospóricos de *F. solani* y *F. oxysporum*, y un aislado del género *Cladosporium*, en 5 µL de la suspensión. La incubación se desarrolló en cámara de crecimiento (LAB-LINE®) a 28±1 °C, fotoperíodo de 16 h luz/8 oscuridad y 29 a 40 µmoles m-2 s-1 de radiación fotosintéticamente activa. El testigo se estableció de igual forma, aunque sólo se aplicó agua estéril.

El efecto de la inoculación fúngica se evaluó en la germinación y plántulas con síntomas particulares, a los 15 y 20 d de la siembra, respectivamente. Las semillas sin germinación aparente y las plántulas que mostraron daño, se colocaron en PDA acidificado a temperatura ambiente de laboratorio y se identificaron los hongos desarrollados.

Diseño experimental y análisis de datos. En el ensayo se determinó frecuencia y diversidad de hongos contaminantes e infectivos, identificados en la semilla almacenada [lotes 1 (sin sarcotesta), 2 (semilla completa y lote 3, (sin sarcotesta)]; por lo que el diseño experimental utilizado fue completamente al azar. Los resultados fueron transformados mediante raíz cuadrada y el análisis estadístico se realizó con PROC GLM y la comparación múltiple de medias con Tukey (α≤0.01), del programa Statistical Analysis System ver. 9 (SAS, 2002). También se determinó la frecuencia de hongos en semilla fresca, completa (lote 4) y sin sarcotesta (lote 5), y se utilizó el mismo procedimiento de transformación y análisis estadístico de resultados empleado para frecuencia y diversidad de hongos contaminantes e infectivos. Lo mismo sucedió para la prueba de patogenicidad, aunque se utilizó PROC ANOVA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las semillas secas de los lotes 1, 2 y 3 hubo desarrollo de hifas de hongos contaminantes e infectivos, 24 h después de la siembra; situación que se apreció en el análisis de varianza para frecuencia de semillas con hongos externos, al exhibir diferencia altamente significativa (P < 0.0001) y CV = 23 %. La

comparación de medias evidenció en el lote 2 un número alto de semillas con presencia de hongos (98 %) y diversidad (9 géneros), con un promedio superior a 2 hongos por semilla, seguido del lote 1 con 52 % de semillas con hongos y 5 géneros diferentes y, por último, el lote 3 tuvo la menor frecuencia (8 %) e igual

variedad de organismos que el lote 1 (Figura 1).

El análisis de varianza para hongos internos de semilla seca, también manifestó diferencia altamente significativa (P < 0.0001) y CV = 24.63, para número

de semillas invadidas. La comparación de medias de Tukey identificó al lote 2 (56 % de semilla infectada y poco más de la mitad de ellas con más de 1 hongo) diferente a lotes 1 y 3, pero semejantes entre ellos en ambas variables evaluadas (Figura 1).

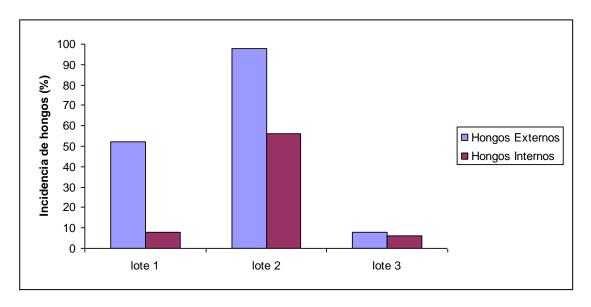


Figura 1. Semilla de papaya Maradol con presencia de hongos superficiales e internos.

La mayor colonización de organismos fúngicos contaminantes en la superficie de la semilla del lote 1. indicaría que las condiciones de almacenamiento fueron inadecuadas por el contacto que tuvo con esporas que, sin embargo, no invadieron tejidos internos de la semilla. La incidencia baja de hongos en el lote 3, pudo ser consecuencia de las mejores condiciones de almacenamiento registradas, como temperatura y humedad relativa. El lote 2 presentó el mayor número de organismos contaminantes e infectivos derivado, además de un almacenamiento inadecuado, de la presencia de la sarcotesta, que pudo haber brindado condiciones apropiadas para la colonización, desarrollo e invasión de tejidos internos de la semilla por hongos. Además, la sarcotesta (cubierta semi-permeable) pudo inhibir la imbibición de la solución sanitaria preventiva, mientras permaneció en contacto con la semilla (2 min), tuvo concentración mínima en la parte externa de la mesotesta y permitió la infección interna. Observaciones similares fueron hechas por Lange (1961), al indicar que la sarcotesta representa un obstáculo para el flujo del agua al interior de la semilla. Los aspectos sanitarios, en cambio, fueron estudiados por Sombra *et al.* (2006), quienes admiten que la contaminación completa de la semilla de papaya se debe en parte a la presencia de la sarcotesta.

El período de almacenamiento entre lotes 1 y 3 no parece haber influido en la infección de la semilla. resultados fueron estadísticamente semeiantes en frecuencia y variedad de hongos internos: situación que cambió para la superficie de la semilla, pues el número y diversidad de hongos externos fue superior en semillas que tuvieron un período prolongado de almacenamiento (lote 1). Bajo ésta situación se identificaron nueve géneros de hongos, algunos de ellos comúnmente asociados a cultivos de (Fusarium, campo Alternaria y Cladosporium). almacén (Aspergillus) y otros relacionados con un deterioro avanzado (Rhizopus y Mucor). Rhizopus, Cladosporium y Mucor se presentaron con mayor frecuencia en los tres lotes de semillas, con y sin tratamiento sanitario (Cuadro 1).

Cuadro 1. Frecuencia y diversidad de géneros de hongos identificados en semilla almacenada de papaya cv. Maradol.

| Lote de semilla | Género de hongo | Localización del hongo en la semilla | |
|-----------------|-----------------|--------------------------------------|----------|
| | | Interior | Exterior |
| 1 | Rhizopus | 3 | 10 |
| | Cladosporium | 1 | 9 |
| | Mucor | 2 | 4 |
| | Fusarium* | | 3 |
| | Alternaria | | 2 |
| 2 | Rhizopus | 16 | 26 |
| | Cladosporium | 24 | 24 |
| | Mucor | 5 | 22 |
| | Fusarium* | 2 | 10 |
| | Alternaria | 5 | 6 |
| | Trichoderma | | 2 |
| | Chrysosporium | | 2 |
| | Aspergillus | | 2 |
| | Cunninghamella | | 2 |
| 3 | Rhizopus | 2 | 5 |
| | Cladosporium | 1 | 5 |
| | Mucor | | 2 |
| | Fusarium* | | 2 |
| | Alternaria | | 1 |

^{*} Comprende Fusarium oxysporum y Fusarium solani. Se omiten hongos no identificados.

En el lote 2 se aislaron hongos de los géneros Aspergillus, Trichoderma, Chrysosporium Cunninghamella, localizados sólo en la semilla sin tratar. En cambio, el tratamiento sanitario de la semilla a base de NaOCI fue suficiente para inhibir su crecimiento, en caso de contaminación. Con base a características de las macroconidias de Fusarium, fue posible identificar a Fusarium solani (Figura 2) y Fusarium oxysporum (Figura 3), con frecuencia numérica similar en lotes de semilla sin tratar. El análisis de las características microscópicas de las estructuras fúngicas que desarrollaron en los medios agar Hoja Clavel y Agar Nutriente Sintético, así como velocidad de crecimiento y coloración de colonias de hongos desarrolladas en PDA, fueron determinantes para identificar las cepas de Fusarium a nivel de especie.

Dopazo et al. (2001) mencionan que las esporas de Cladosporium, Alternaria y Fusarium se identifican con frecuencia en muestras aerobiológicas; por lo cual, se reconocen como contaminantes localizados en el ambiente y causantes de enfermedades en frutos de

papaya (UACh, 2002). En nuestro caso, las esporas de dichos hongos pudieron contaminar la semilla de papaya durante el proceso de extracción. Géneros *Rhizopus y Mucor* causan Pudrición Blanda de Fruto de papaya e invaden la semilla por la cavidad ovárica del fruto o, indirectamente, durante la extracción (Albornett y Sanabria, 1994). Estos géneros de hongos son comunes en el suelo y productos orgánicos en descomposición, donde encuentran humedad relativa de 95 a 100 % favorable para su desarrollo; así como en pruebas de germinación de laboratorio, sin alterar los resultados finales (Moreno, 1988).

El crecimiento fúngico a 48 h de la siembra sólo se observó en 1.3 % de semillas recién extraídas y el hongo aislado se identificó como *Fusarium oxysporum*. La baja incidencia de hongos no tuvo mayor efecto en la semilla, a pesar del riesgo de contaminación que significa para ésta antes de ser extraída del fruto. Algunos estudios demuestran que *Cladosporium*, *Fusarium* y *Penicillium*, tienen la capacidad de destruir el pericarpio del fruto, penetrar

el mesocarpio y establecerse en la cavidad seminal; hecho que aumenta la probabilidad de encontrarlos en la semilla (UACh, 2002). Además, y no obstante clasificarse entre los agentes fúngicos con mayor potencial patogénico, el género *Alternaria* se omitió del estudio dada la producción baja de esporas para la inoculación.

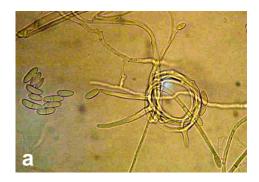




Figura 2. Estructuras de Fusarium solani: a) Monofialides y microconidios; b) Clamidosporas de F. solani.





Figura 3. Estructuras de Fusarium oxysporum que muestra: a) Fialide corta y; b) Macroconidio.

Una vez que se aseguró la autenticidad de las cepas, las semillas frescas inoculadas con *F. solani* presentaron crecimiento de micelio visible a simple vista en la superficie de la mesotesta, caracterizado por un color crema acentuado en la región hiliarmicropilar, sitio de emergencia de la radícula. De igual forma, *F. oxysporum* se manifestó en la semilla con crecimiento de micelio color púrpura, pero en menor escala que *F. solani*. En cambio *Cladosporium* observó poco desarrollo y visible sólo en microscopio. Bajo esta situación, el análisis de varianza reveló diferencia estadística significativa en la germinación (P ≤ 0.05).

Radículas y plántulas que emergieron del medio de cultivo y semillas inoculadas con *Fusarium*, mostraron necrosis en la cofia, raíces laterales e hipócotilo y provocaron la muerte de plántulas; a diferencia de *Cladosporium* y testigo. Así entonces, el análisis de varianza exhibió diferencia altamente significativa y la prueba de Tukey no reveló efectos estadísticos

significativos entre especies de *Fusarium* en la semilla inoculada, pero fueron estadísticamente diferentes respecto al testigo y *Cladosporium*. La necrosis que provocaron *F. oxysporum* y *F. solani* a la radícula y plántulas de papaya, promovieron la formación y muerte de raíces secundarias. La síntomatología se asemeja a aquella que aparece en la etapa de almácigo, durante o después de la germinación, y que se manifestó en emergencia baja debida a ahogamiento o *damping-off* (De los Santos *et al.*, 2000). El efecto de *F. oxysporum* y *F. solani* en la germinación, indicaría que el daño que provocan ocurre antes de la protrusión de la semilla por la radícula.

El efecto desfavorable de *F. oxysporum* y *F. solani* en plántulas de papaya analizadas, demuestra la patogenicidad que ejercen al descuidar el manejo sanitario de la semilla. Diversos resultados también hacen referencia a la patogenicidad de estas dos especies de *Fusarium*. Agrios (1996) menciona que *F. oxisporum* y *F. solani* son causantes de la pudrición de semillas y

plántulas en distintas especies de plantas, y Mora y Morales (1980) reconocen a *Fusarium* como integrante del complejo de hongos causantes del tejido necrótico radical de plantas de papaya. Resultados de Guevara *et al.* (1992) revelan que la sintomatología de *Fusarium*, *Alternaria* y *Cladosporium* inoculados en plántulas de papaya fue distinta e imperceptible, a diferencia de la que mostraron en la fuente de origen (pecíolos y hojas de color amarillo). Hecho que en nuestro trabajo sólo se aplicaría a *Cladosporium*, que contaminó la semilla de papaya sin daño aparente.

El género *Alternaria* causa maduración temprana de fruto y necrosis interna de la semilla y pulpa; también es saprófito de plantas y, en ocasiones, altera la germinación al incidir en el tegumento de la semilla (UACh, 2002). No obstante, aparece como patógeno débil que se controla químicamente con facilidad (Bernal *et al.*, 2000). En nuestro caso, el grado de patogenicidad que mostró *Alternaria* inoculado a semillas de papaya, se asemeja a las descripciones anteriores.

CONCLUSIONES

La semilla de papaya es susceptible a contaminación superficial e infección de hongos de los géneros *Rhizopus, Cladosporium, Mucor, Fusarium, Alternaria, Trichoderma, Chrysosporium, Aspergillus* y *Cunninghamella*. Los tres primeros fueron frecuentes en lotes de semilla de papaya con y sin tratamiento sanitario. Sólo *Fusarium* se identificó a nivel de especie: *F. osxisporum* y *F. solani*. Fusarium y Alternaria son hongos infectivos y el resto sólo infestan la semilla de papaya. Ambas especies de *Fusarium* fueron identificadas sólo en semillas recién extraídas y mostraron mayor agresividad en éstas y en plántulas de papaya.

El daño que provoca este hongo ocurre en la semilla almacenada, primera fase de la germinación y emergencia plántulas, aunque por su baja incidencia no representaron un riesgo para la semilla. En tanto que, los hongos que infestaron la semilla, por su número, podrían representar mayor peligro por el grado de patogenicidad que los caracteriza. A nivel comercial, la semilla de papaya requiere acondicionamiento adecuado de la semilla, como eliminación de sarcotesta, secado adecuado y tratamiento con fungicida, con el propósito de contar con plántulas sanas y vigorosas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Agrios NG (1996). Fitopatología. 2ª edición. Ed. LIMUSA. Noriega Editores. México, D.F. 838 p.
- AgroChiapas (2005). Plan rector sistema producto papaya Chiapas. Página en línea: http://www.agrochiapas.gob.mx/sitio/tmp/SP/archivos/SP-Papaya.pdf. Fecha de consulta: 05/03/2007
- Albornett NJY; Sanabria AHN (1994). Diagnóstico de las enfermedades fúngicas en frutos de lechosa (*Carica papaya*) y melón (*Cucumis melo*) para exportación. Rev. Facultad de Agronomía 20: 13-20
- Alvarez-Pardo VM; Gui FA; Nunes FEV (2006). Seed desinfestation methods for in vitro cultivation of epiphyte orchids from Southern Brasil. Hort. Bras. 24: 217-220
- Arrieta RA; Carrillo AE (2002). Respuesta del papayo variedad Maradol a tres espaciamientos de drenaje subsuperficial. *Terra* 20: 435-447
- Barnett H; Hunter B (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. 3ª ed. APS Press. U. S. A. 218 p.
- Bernal MR; Rodríguez VJ; Estrada GJA; Hernández LA; Gatica VM (2000). Micoflora asociada a la semilla de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). Fitotecnia Mexicana 23(1): 109-118
- Bayot RG; Villegas; VN; Magdalena PM; Jovellana MD; Espino TM; Esconde SB (1990). Seed transmissibility of papaya ringspot virus. Philippines Journal of Crop Sciences 15:107-111
- Contreras de Velásquez N; Rondón A (1980). Etiología de la mancha parda de los cítricos en Venezuela. Agron. Trop. 35(1-3): 111-115
- De Los Santos RF; Becerra LEN; Mosqueda VR; Vásquez HA; Vargas GAB (2000). Manual de producción de papaya en el estado de Veracruz. INIFAP-CIRGOC. Campo Experimental Cotaxtla. Folleto Técnico No. 17. 2ª edición. Veracruz, México. 87 p.
- Dopazo MA; Herves; GM; Aira RMJ (2001). Concentración de esporas de Alternaria, Cladosporium y Fusarium en la atmósfera de Santiago de Compostela. Botánica Complutense 25: 83-91

- Gardan L; Christen R; Achouak W; Prior P (2004). Erwinia papayae sp. nov., a pathogen of papaya (*Carica papaya* L.). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54: 107-103
- Guevara Y; Rondón A; Maselli A; Salcedo F; Betancourt J (1993).
 Marchitez bacteriana del lechosero Carica papaya L. en Venezuela.
 Agronomía Tropical. 43(3-4): 107-116
- Kulik MM; Schoen FJ (1977). Procedures for the routine detection of seedborne pathogen fungi in the seed testing laboratory. Journal of Seed Technology 2(1): 23-39
- Lange HA (1961). Effect of the sarcotesta on germination of *Carica papaya* L. Botanical Gazzete 122: 305-311.
- Mora AD; Morales FB (1980). Etiología de la pudrición radical de la papaya en Costa Rica. Agronomía Costarricense 4(2): 191-193
- Moreno ME (1988). Manual para identificación de hongos en granos y sus derivados. UNAM. México. 107 p.
- Moreno ME (1996). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3ª edición. UNAM. México. 393 p.
- Nelson PE; Tousson AT; Marasas FOW (1983). Fusarium species: An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University, University Park. 193 p.
- Nishina MS; Nagao MA; Furutani SC (2004). Optimizing germination of papaya seeds. Fruit and Nuts. F&N-8. Cooperative Extensión Service. Collage of Tropical Agricultura and Human Resources. University of Hawai at Mānos. April 2004. Página en línea: http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/F_N-8.pdf. Consulta: 17/06/2008
- Ramírez L; Durán A; Mora D (1998). Combate integrado de la pudrición radical de la papaya (*Phytophthora* sp.) a nivel de vivero. Agron. Mesoamericana 9(1): 72-80

- Romais SE; Fronza V; Saavedra DJL; Unêda SH; Mantovani AE (1993). Comparação de métodos físicos de remoção da sarcotesta e de métodos de secagem de sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.). Ver. Bra. de Sem. 15(2):147-151.
- SAS (Statistical Analysis System Institute, Inc.) (2002). SAS/SAT User's Guide. Version 9. Cary, N.C. USA.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2007).
 Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. SAGARPA. México.
 Página en línea: www.siap.gob.mx. Fecha de consulta: 06/04/2007
- Sombra BNS; Benbadis KA; Araújo CM; Santiago SJN (2006). Avalição, germinação e respostas morfogenéticas do mamão cultivado *in vitro* (*Carica papaya* L.). Rev. Ciência Agron. 37(2): 308-313
- UACh (Universidad Autónoma Chapingo) (2002). Estudio para dar valor agregado en papaya Maradol (*Carica papaya* L.). Unidad Gestora de Servicios Tecnológicos. Universidad Autónoma Chapingo. Octubre de 2002. página en línea: www.contactopyme.gob.mx/estudios. Fecha de consulta: 03/06/2007