

# Crecimiento de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* en medios de cultivo de harina de semillas de frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp., frijol chino *Vigna radiata* L. y quinchoncho *Cajanus cajan* (L.) Millsp.

Atilio Higuera Moros<sup>1\*</sup>, Jairo Fontalvo<sup>2</sup>, Laisa Niño<sup>2</sup>, José Sánchez<sup>2</sup>,  
Adolfredo Delgado<sup>1</sup>, Ruddy Villalobos<sup>1</sup> y Martín Montiel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

<sup>2</sup>Ingeniero Agrónomo egresado de LUZ. <sup>3</sup>Auxiliar de Investigación.  
Programa CONDES 0345-02. Universidad del Zulia.

Recibido: 30-03-01 Aceptado: 31-03-03

## Resumen

El presente estudio se realizó con la finalidad de evaluar el crecimiento de hongos patógenos en medios de cultivo elaborados con harina producto de la molienda de semillas de leguminosas. Las especies utilizadas fueron frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp.; frijol chino *Vigna radiata* L. y quinchoncho *Cajanus cajan* (L.) Millsp. El ensayo se condujo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía, de La Universidad del Zulia. Se prepararon 6 medios de cultivo diferentes para evaluar el crecimiento de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. y *Fusarium oxysporum* Schlecht. Tres de los medios fueron preparados utilizando harina de frijol, frijol chino y quinchoncho. Los tres medios restantes fueron PDA, Jugo V8 y agar agua, los cuales sirvieron como testigo. Los medios de cultivo fueron preparados hirviendo las harinas de leguminosa en forma individual en agua destilada, las cuales fueron utilizadas como medio líquido (Caldo de Harina: CH) y medio sólido (Agar Harina: AH). El diseño experimental empleado fue bloques completamente aleatorizados con arreglo de tratamientos en parcelas divididas y 5 repeticiones. Los promedios de los resultados se compararon mediante la prueba de Tukey. El hongo *Macrophomina phaseolina* mostró el mayor crecimiento, 77,30 cm<sup>2</sup> en promedio superando significativamente (P<0,01) el crecimiento de *Fusarium oxysporum* de 29,68 cm<sup>2</sup>. El agar quinchoncho demostró ser el mejor medio de crecimiento para cualquiera de los dos patógenos evaluados. Los resultados demuestran que el agar quinchoncho y el agar frijol pueden ser alternativas en la preparación de medios de cultivo para aislar hongos.

**Palabras clave:** *Cajanus cajan*; hongos fitopatógenos; medios de cultivo; *Vigna radiata*; *Vigna unguiculata*.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: atiliohiguera@hotmail.com

# *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum* growth in media prepared with cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp., mung bean *Vigna radiata* L. and pigeonpea *Cajanus cajan* (L.) Millsp. seeds flour.

## Abstract

A trial was conducted in order to test pathogenical fungus growing in media made from mild legumes seed. The species used were: cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp.; mung bean *Vigna radiata* L. and pigeon pea *Cajanus cajan* (L.) Millsp. The experiment was conducted in the microbiology lab, of the Facultad de Agronomía, at La Universidad del Zulia. Six media were evaluated to measure the growth of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. and *Fusarium oxysporum* Schlecht fungus. Three media were prepared using cowpea, mung bean and pigeon pea seeds flour. The others three media were PDA, V8 Juice and agar water, used as control. Media were prepared using boiled pure water and legume flour used separately as liquid media (Caldo de Harina: CH) and solid media (Agar Harina: AH). A complete randomized blocks (CRB) design was used and treatments were arranged in split plots with five replications. Results were compared using Tukey test. *Macrophomina phaseolina* showed a growth of 77.30 cm<sup>2</sup> higher than *Fusarium oxysporum*, 29.68 cm<sup>2</sup> (P<0.01). Pigeon pea agar was the best media to growth *M. phaseolina* and *F. oxysporum*. Pigeon pea agar and cowpea agar could be an alternative to prepare media to growth fungus.

**Key words:** *Cajanus cajan*; fungus; media ingredients; *Vigna radiata*; *Vigna unguiculata*.

## Introducción

Las especies vegetales *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *Vigna radiata* L. y *Cajanus cajan* (L.) Millsp. son conocidas en Venezuela con el nombre común de frijol, frijol chino ó lenteja criolla y quinchoncho, respectivamente. Taxonomicamente pertenecen a la familia Leguminosae, subfamilia Papilionidae, orden Fabales (1, 2). En el país dichas leguminosas son cultivos de notable importancia económica considerados por el gobierno nacional como cultivos estratégicos debido a su alto contenido nutricional y su diversidad de usos tanto en la alimentación humana como animal (3-15).

Como leguminosas de grano tradicionalmente han sido utilizadas como parte de la dieta del venezolano y como base de la alimentación popular. Se cultivan en diferen-

tes regiones del país y bajo distintos sistemas de explotación, desde la agricultura de subsistencia hasta la producción empresarial altamente tecnificada (3-6).

Las leguminosas de grano son plantas anuales de ciclo vegetativo corto, de clima cálido, resistentes a sequía y adaptadas a una amplia gama de suelos, incluso suelos ácidos, sembrándose asociados a otros cultivos, principalmente cereales. La utilidad de las leguminosas de grano reside en la semilla aunque pueden utilizarse también como forrajes, en ensilajes y como abonos verdes, ya que poseen la propiedad de enriquecer con nitrógeno los suelos donde se cultivan, debido a la simbiosis con las bacterias fijadoras de nitrógeno, (1).

Con respecto al valor nutritivo de las especies de leguminosas estudiadas se pue-

de indicar que la composición química de la semilla de frijol es de un 23% de proteína cruda, 56% de carbohidratos, 1,3% de grasas, 4% de fibra y 3,5% de ceniza, con valores de hierro y fósforo altos y una suplementación de aminoácidos esenciales superior a los observados en caraota, frijol chino y quinchoncho. El frijol chino se caracteriza por presentar un alto contenido de proteína (21-28%), calcio, fósforo y ciertas vitaminas. El quinchoncho es una fuente de proteína vegetal (21%), con 1% de grasa, 55% de carbohidratos, alto contenido de lisina y de vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C, Fe y P (2-7).

La situación económica existente en el país conlleva a buscar alternativas de materia prima que reduzcan los costos de elaboración de medios de cultivo con fines de estudios de bacterias y hongos patógenos, debido al alto costo de las divisas que se requieren para su importación. Pocos trabajos se han realizado en medios de cultivo preparados con harinas de leguminosas. A nivel global, existe información acerca de la elaboración de medios de cultivos para bacterias, no así en el caso de medios de crecimiento para hongos (8).

Díaz y González (9) elaboraron medios para el crecimiento bacteriológico a partir de la harina de cují *Prosopis juliflora* hirviendo la misma en agua destilada, filtrada y usada para elaborar un medio de cultivo líquido (Caldo Cují: C.C.) y uno sólido (Agar Cují: A.C.)

Dichos autores probaron once cepas agrupadas como exigentes: *Streptococcus pyogenes* y *Bortadella bronchiséptica*; medianamente exigentes: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Klebsiella sp.* y *Staphylococcus aureus.*; y poco exigentes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus*. Los autores observaron un buen crecimiento a las 48 horas de *Streptococcus pyogenes*, no así el de *Bortadella bronchiséptica* cuyo crecimiento fue muy pobre. *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* presentaron

crecimiento pobre e irregular, mientras que las cepas no exigentes presentaron muy buen crecimiento aún a las 24 horas.

Por su parte, Villanueva y Belloso (7) realizaron la extracción de una peptona a partir de la harina del grano de quinchoncho por hidrólisis alcalina comparando las características físico-químicas con la peptona comercial de carne preparando agares y caldos nutritivos. Se tomaron observaciones de morfología colonial y celular, tamaño celular y comportamiento bioquímico, para establecer una curva de crecimiento. Se concluyó que la peptona extraída de la harina de quinchoncho es un buen sustituto de la peptona de la carne en los medios de cultivo para *Staphylococcus aureus*.

Los hongos son heterótrofos y como sa-profitos obtienen su alimento de la materia orgánica muerta o se alimentan de huéspedes vivos parasitándolos. Pueden destruir plantas completas y restos de animales degradándolos a formas químicas simples que pasan al suelo y son absorbidas por otra generación de plantas (10). *Macrophomina phaseolina* germina y luego infecta los tallos de las plántulas cerca de la superficie del suelo, en la base de los cotiledones en desarrollo y penetra a través de la raíz. El hongo produce chancros negros con un margen bien definido y a menudo presentan anillos concéntricos. Se observa una pudrición carbonosa a través del tallo (11).

El género *Fusarium* habita en el suelo y sobrevive entre los restos de plantas infectadas que yacen en el mismo en forma de micelios mediante clamidiosporas. Los tubos germinales de las esporas penetran directamente por las puntas de la raíz, mediante heridas o a nivel de zonas donde se forman las raíces laterales. El micelio se propaga intercelularmente a través de la corteza de la raíz y cuando llega a los vasos xilemáticos ascienden hasta la parte superior de las plantas en el torrente de la savia obstruyendo los vasos y afectando el transporte de agua, causando la marchitez de las hojas

(8-12). El control de ambos patógenos solo es posible mediante el uso de variedades resistentes controlando el riego. Los hongos de los géneros *Macrophomina* y *Fusarium* forman estructuras de resistencia en el suelo que les permite subsistir bajo condiciones adversas del medio ambiente.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el crecimiento de hongos fitopatógenos tales como, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. y *Fusarium oxysporum* Schlecht, utilizando harina de semillas de frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp.; frijol chino *Vigna radiata* L. y quinchoncho *Cajanus cajan* (L.) Millsp. como ingrediente en la preparación de medios de cultivo, con el propósito de presentar una alternativa de reducción de gastos de divisas en la importación de los mismos.

## Materiales y Métodos

### Obtención de la harina de frijol, frijol chino y quinchoncho

Las semillas de frijol, frijol chino y quinchoncho fueron suministradas por el personal adscrito al Programa de Leguminosas de Grano, de la Facultad de Agronomía, de La Universidad del Zulia. Las mismas fueron recolectadas en la granja experimental Ana María Campos, de La Universidad del Zulia, ubicada 10°33' L.N. y 71°43' L.O., a 30 msnm, con suelos Typic Haplargid y vegetación de bosque muy seco tropical, con temperatura promedio de 27°C y 471 mm de precipitación media anual (5). Dichas semillas posteriormente fueron conservadas en cava refrigerada con temperaturas entre 5 y 8°C y humedad relativa del 35%.

Las semillas se molieron en un molino eléctrico de martillo utilizando un tamiz de un milímetro de diámetro a objeto de obtener la harina. Este procedimiento se realizó por separado para cada tipo de grano. La harina molida fue conservada en bolsas plásticas y refrigerada a 10°C en una nevera.

### Preparación de los medios de cultivo conteniendo harina de leguminosas

Los medios de cultivo fueron preparados hirviendo ½ litro de agua destilada, a la cual se añadió 50 g de harina de semilla. La mezcla se dejó hervir aproximadamente por un minuto agitándola constantemente. Luego se procedió al filtrado usando una gasa para retener los gránulos de las harinas de frijol, frijol chino y quinchoncho. Este procedimiento se hizo por separado para cada una de las leguminosas estudiadas. Posteriormente, se esterilizó en el autoclave y se procedió a agregar 10 g de agar a razón de 6 mL por cápsula para cada medio de cultivo.

### Preparación de los medios utilizados como testigo

PDA: este medio fue preparado hirviendo ½ litro de agua destilada, agregándole 100 g de papa en trozos pequeños. Ablandada la papa se procedió a filtrarla quedando un sustrato al cual fue agregado 10 g de dextrosa y 8 g de agar para solidificar el medio (9).

Jugo V8: se hirvieron 400 mm de agua destilada, luego se agregaron 100 mm de Jugo V8 y 10 g de agar para solidificar el medio (13). El Jugo V8 es una mezcla de jugos de tomate, zanahoria, celery, lechuga, perejil espinaca, berro y remolacha que proporciona: 70% de calorías, 0% de colesterol, 37% de sodio, 22% de potasio, 5% de carbohidratos, 11 g de agua, 3 g de proteína, 12% de fibra, 70% de vitaminas, 120% de vitamina C, 6% de calcio y 6% de hierro.

Agar Agua: se preparó hirviendo ½ litro de agua destilada y luego se le agregaron 10 g de agar (9).

### Aislamiento de los hongos

Todos estos medios fueron probados para evaluar el crecimiento de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. y *Fusarium oxysporum* Schlecht. En el caso de *Macrophomina*, este hongo se recolectó en plantas de frijol contaminadas con el patógeno, las cuales fueron recolectadas en la granja experimen-

tal Ana María Campos. La cepa de *Fusarium* fue obtenida de la raíz de una planta de lechosa colectada en el vivero de la Facultad de Agronomía, de La Universidad del Zulia. Una vez colectados los patógenos se llevaron al laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Agronomía, de La Universidad del Zulia y se procedió a su aislamiento en P.D.A. a fin de asegurar su identificación y pureza. Los medios una vez solidificados permitieron realizar la siembra de los hongos fitopatógenos en una cámara de aislamiento. El ensayo se condujo colocando los 6 medios preparados en cápsulas de Petri previamente desinfectadas. Los medios probados fueron agar frijol, agar frijol chino, agar quinchoncho, usando como testigo PDA., agar Jugo V8 y agar agua. Las cápsulas posteriormente fueron selladas para evitar la entrada de agentes contaminantes.

#### **Características nutricionales de los medios de cultivo preparados con harinas de leguminosas**

Mediante análisis químico proximal de Weende se procedió a determinar el contenido de proteínas, grasas y carbohidratos de los medios de cultivo preparados con las harinas de las leguminosas evaluadas. Dicho análisis permiten separar mediante técnicas de laboratorio los seis diferentes grupos de nutrientes, de los cuales consta potencialmente un alimento: agua, ceniza, proteína cruda, grasa, fibra cruda y por diferencia de 100, el extracto libre de Nitrógeno (14).

#### **Evaluación del crecimiento de los hongos**

Cada 6 horas se realizaron observaciones para medir el comportamiento del crecimiento del patógeno en cada uno de los medios. El crecimiento ocurrió en forma circular y fue medido calculando la superficie completa de la circunferencia, mediante la ecuación  $S = \Pi (R^2)$  y la corona, a través de la ecuación  $\Pi (R^2 - r^2)$ , donde R es el radio de la circunferencia externa y r es el radio de la circunferencia interna. Los resultados se interpretaron comparando las diferencias en

el crecimiento definido por la superficie estimada. La evaluación de *Macrophomina* y *Fusarium* se llevó a cabo durante 102 horas, a fin de estandarizar los promedios de crecimiento de ambos patógenos.

En el caso del medio agar agua, por ser un medio solidificante y no nutritivo no se observó crecimiento alguno, por lo que fue descartado a los fines del procesamiento de los datos.

#### **Análisis de los resultados**

El diseño experimental empleado fue el de bloques completamente aleatorizados con arreglo de tratamientos en parcelas divididas y 5 repeticiones. Los promedios de los resultados se compararon mediante la prueba de Tukey.

### **Resultados y Discusión**

En la Tabla 1 se presentan los resultados del análisis proximal realizado para los medios de cultivo en donde se utilizó harina de frijol, frijol chino y quinchoncho comparados con PDA, observándose que el contenido de proteína cruda de las harinas evaluadas oscila entre 18,96 y 23,03%. Dichos valores superan el contenido de proteína que ofrece el medio P.D.A. El contenido de fibra cruda determinado en las muestras de harina de leguminosas varió entre 4,15 y 9,15%, alcanzando valores hasta 4 veces mayores que el observado en P.D.A. Todas las harinas resultaron similares al P.D.A. en porcentaje de nutrientes digestibles totales.

El análisis de varianza permitió detectar diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) para la fuente de variación patógenos, medios de cultivo y su interacción.

Al realizar la comparación de medias representada en la Tabla 2, se deduce que el hongo *Macrophomina phaseolina* superó casi tres veces ( $77,30 \text{ cm}^3$ ) el crecimiento observado en el caso de *Fusarium oxysporum* cuyo promedio de crecimiento fue de  $29,68 \text{ cm}^2$ .

Tabla 1  
Análisis bromatológico de cuatro medios de cultivo utilizados

Identificación	% MS	% CEN	% PC	% EE	%FC	%ELN	%NDT
P.D.A.	86,66	5,55	11,05	0,94	1,84	80,62	75,76
Frijol	87,48	5,01	21,41	0,76	4,15	68,67	75,40
Frijol Chino	88,83	4,53	23,03	0,57	7,96	63,91	75,35
Quinchoncho	88,51	4,53	18,96	1,98	9,15	65,38	78,08

Con relación a los medios de cultivo, tal como se presenta en la Tabla 3 el mayor crecimiento de hongos se observó en las cápsulas preparadas con agar quinchoncho (61,69 cm<sup>2</sup>), atribuible posiblemente al alto porcentaje de nutrientes digestibles totales proporcionado por la harina de quinchoncho. Los medios de agar frijol y P.D.A. resultaron estadísticamente similares, con valores de crecimiento intermedio de 55,32 cm<sup>2</sup> y 54,25 cm<sup>2</sup>, respectivamente. Los menores promedios de crecimiento de los hongos fueron registrados por los medios agar Jugo V8 (48,32 cm<sup>2</sup>) y agar frijol chino (47,88 cm<sup>2</sup>).

Debido a la significancia de las interacciones, se puede indicar que la respuesta de crecimiento del patógeno va a depender de la combinación de especie fungosa y tipo de materia prima utilizada en la elaboración del medio de cultivo para su desarrollo.

En la Tabla 4 se señalan los promedios de crecimiento para cada una de las combinaciones patógeno-medio de cultivo. Como es posible apreciar, el crecimiento de *Macrophomina phaseolina* fue similar, independientemente del medio de cultivo, oscilando entre 75,57 y 77,75 cm<sup>2</sup>. Sin embargo en el caso de *Fusarium oxysporum* pudo observarse un comportamiento diferencial en el crecimiento, de acuerdo al medio de cultivo. Este patógeno presentó mayor crecimiento al sembrarse en agar quinchoncho, 45,63 cm<sup>2</sup>. Valores intermedios de crecimiento de *F. oxysporum* fueron observados en los medios de cultivo agar frijol y agar frijol chino, con valores de 30,81 cm<sup>2</sup> y 32,89 cm<sup>2</sup>, res-

Tabla 2  
Promedios de crecimiento de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum*, expresados en cm<sup>2</sup>

Patógeno	Valores Promedios	
<i>Macrophomina phaseolina</i>	77,30 cm <sup>2</sup>	a
<i>Fusarium oxysporum</i>	29,68 cm <sup>2</sup>	b

Tabla 3  
Promedios de crecimiento de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* en los cinco medios de cultivo evaluados (cm<sup>2</sup>)

Medio de Cultivo	Valores Promedios	
Agar quinchoncho	61,69 cm <sup>2</sup>	a
Agar frijol	55,32 cm <sup>2</sup>	b
P.D.A.	54,25 cm <sup>2</sup>	b
Agar Jugo V8	48,32 cm <sup>2</sup>	c
Agar frijol chino	47,88 cm <sup>2</sup>	c

(a,b): medias seguidas de distintas letras son significativamente diferentes.

pectivamente. En los medios agar PDA y Jugo V8 se presentaron los valores más bajos de crecimiento del hongo, 20,19 cm<sup>2</sup> en el primer caso y 18,89 cm<sup>2</sup> en el segundo. Resulta importante aclarar que las especies de hongos estudiados en P.D.A. no modificaron

Tabla 4  
Valores promedios de crecimiento observado para la interacción patógeno-medio de cultivo, expresados en  $\text{cm}^2$ .

Medio de Cultivo	<i>Macrophomina</i>	<i>Fusarium</i>		
Agar quinchoncho	77,75 $\text{cm}^2$	a	45,63 $\text{cm}^2$	a
Agar frijol	77,69 $\text{cm}^2$	a	30,81 $\text{cm}^2$	b
P.D.A.	75,57 $\text{cm}^2$	a	20,19 $\text{cm}^2$	c
Agar Jugo V8	77,75 $\text{cm}^2$	a	18,89 $\text{cm}^2$	c
Agar frijol chino	77,75 $\text{cm}^2$	a	32,89 $\text{cm}^2$	b

(a,b): medias seguidas de distintas letras son significativamente diferentes.

sus características de crecimiento con respecto a los medios donde se utilizó harina de leguminosas.

Según los resultados obtenidos por Villanueva y Belloso (7) con medios de cultivo para *Staphylococcus aureus* (bacteria), existe una similitud de respuesta en cuanto a capacidad de crecimiento, cuando se usa agar quinchoncho. Esto posiblemente se deba al hecho de que la harina del grano de quinchoncho presenta una peptona extraíble por hidrólisis alcalina, que se convierte en un buen sustituto de la peptona de la carne, cuando se comparan las características físico-químicas de la misma con la peptona comercial de carne utilizada en la preparación de agares y caldos nutritivos, como fuente de proteína.

Así mismo, tal como señalan Díaz y González (9), de acuerdo con los resultados obtenidos, se podría recomendar la utilización de harinas de leguminosas, tales como cuji y quinchoncho, como materia prima en la elaboración de medios para el crecimiento tanto bacteriológico como fungoso, lo cual se traduciría en un ahorro considerable de divisas.

Los resultados obtenidos por Villanueva y Belloso (7) y los de Díaz y González coinciden con los del presente trabajo, ya que el uso de la harina de quinchoncho puede ser recomendado como ingrediente de medios de cultivo.

## Conclusiones

Los hongos fitopatógenos *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* no modificaron sus características de crecimiento en los medios donde se utilizó harinas de leguminosa al compararlos con los medios testigo.

El medio agar quinchoncho presentó un mayor crecimiento de hongos, posiblemente porque ofrece mayor contenido de nutrientes.

El comportamiento de los microorganismos en cuanto crecimiento en los medios agar quinchoncho y agar frijol abre un panorama de investigación que debe ser ampliado ya que pueden ser utilizados como alternativa útil y económica en la preparación de medios de cultivos para estudiar hongos fitopatógenos.

## Agradecimiento

Los autores desean agradecer el apoyo financiero otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, de La Universidad del Zulia y el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación, para la realización de esta investigación.

## Referencias Bibliográficas

1. BOX M. Leguminosas de grano. Primera Edición. Editorial Salvat Editores, Madrid (España), pp. 452, 1961.

2. FONDO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. El cultivo de frijol. Centro nacional de Investigaciones Agropecuarias. Serie de Paquetes Tecnológicos Nº 5. Maracay (Venezuela), pp. 84, 1988.
3. CARMONA A., JAFFE W. Importancia de las leguminosas en la alimentación humana. En Memorias del Taller: Un programa integral de investigación en leguminosas. Universidad Central de Venezuela, Caracas (Venezuela), pp. 67-82, 2002.
4. FUNDACIÓN SERVICIO PARA EL AGRICULTOR. Caraota y frijol. Serie Petróleo y Agricultura. Nº 5. Editado por Fusagri. pp. 95, 1987.
5. LOBO R., HIGUERA A., PAVÓN J., SANDOVAL L. *Rev Fac Agron* 13 (6): 687-696, 1996.
6. VALLADARES N.E. Nuevas líneas experimentales de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. Edición Banco Consolidado, Caracas (Venezuela), pp. 13-14, 1990.
7. VILLANUEVA J., BELLOSO G. Utilización del grano del quinchoncho (*Cajanus cajan*) como materia prima para la obtención de la fuente proteica de los medios de cultivos microbiológicos para *Staphylococcus aureus*. Memorias del III Congreso Científico. Maturín (Venezuela), pp. 172, 1996.
8. SUBERO L.J. Enfermedades causadas por hongos y bacterias en leguminosas comestibles. En Memorias del Taller: Un programa integral de investigación en leguminosas. Universidad Central de Venezuela, Caracas (Venezuela), pp. 131-133, 2002.
9. DIAZ E.E., GONZALEZ N. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias, VII (1): 57-64, 1997.
10. PELCZAR R., REID C., CHAIN E. Microbiología. Cuarta Edición. Editorial Mc Graw-Hill. México-Buenos Aires. pp. 247-257, 1997.
11. PIÑEIRO A. Evaluación de la influencia de diferentes dosis de nitrógeno, fósforo y potasio en el rendimiento y resistencia a *Macrophomina* (Tassi) Goid. en sorgo granero *Sorghum bicolor* (L.) Moench., Pioneer 815. La Universidad del Zulia, (Trabajo de Ascenso). Maracaibo (Venezuela), pp. 49, 1991.
12. AGRIOS G.N. Fitopatología. Segunda Edición. Editorial Noriega. México. pp. 424-431, 1995.
13. DE BAUER M.A. Leguminosas de grano. Primera Edición. Editorial Limusa México. pp. 384, 1987.
14. FERNÁNDEZ A. Nutrición animal para zootecnistas. Primera Edición. Editorial América, Caracas (Venezuela), pp. 33-46, 1987.
15. ANGULO I., LEON A. Las leguminosas en la alimentación de aves. En Memorias del Taller: Un programa integral de investigación en leguminosas. Universidad Central de Venezuela, Caracas (Venezuela), pp. 273-282, 2002.