

Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* en frijol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma sp.* y *Pseudomonas fluorescens*

Biological control of *Phaseolus vulgaris* bean vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* with combined *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma sp.* and *Pseudomonas fluorescens* action

Camila Avendaño¹, Germán Arbeláez² y Guillermo Rondón (qepd)³

Resumen: *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma sp.*, *Pseudomonas fluorescens* y una combinación de estos antagonistas fueron evaluados como biocontroladores de *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* en plantas de frijol de la variedad 'ICA Tundama'. El ensayo se estableció en una casa de malla del Programa nacional de manejo integrado de plagas (MIP) de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), en el Centro de Investigación Tibaitatá, Mosquera (Cundinamarca), utilizando un diseño completamente aleatorizado, con 5 tratamientos más un testigo absoluto y un testigo infectado. Las evaluaciones se realizaron durante la floración, el llenado de vainas y la cosecha. Los resultados fueron poco efectivos con los organismos utilizados y no parecen ser muy promisorios para el manejo de este tipo de enfermedades vasculares. Sin embargo, se encontraron valores destacables de colonización en las raíces de frijol por parte de *E. colombiana*, pero sin mostrar un efecto vigorizante en el crecimiento de las plantas. La presencia de *P. fluorescens* aumentó el vigor de las plantas y dio como resultado un mayor crecimiento. La aplicación de *Trichoderma sp.* no presentó un poder antagonista aceptable, aunque fue el mejor resultado de control con respecto a los demás tratamientos.

Palabras clave adicionales: antagonismo, patógeno, enfermedades vasculares, variedad 'ICA Tundama'

Abstract: *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma sp.*, *Pseudomonas fluorescens* and a combination of these organisms were evaluated as antagonists in biological control of *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* on 'ICA Tundama' variety bean plants. The research was carried out in one of Corpoica's mesh-houses using a completely randomized design, with 5 treatments, an absolute control treatment (no microorganisms present) and an infected control treatment (pathogen only). Evaluation was made during flowering, pod-filling and harvesting. The results revealed the low effectiveness of the organisms applied and they did not seem to be very promising in terms of controlling vascular diseases. However, good colonisation of bean roots by *Entrophospora colombiana* was observed, but without invigorating plant growth. *Pseudomonas fluorescens* increased plant growth and vigour. Applying *Trichoderma sp.* did not present any antagonistic effect, although it was the best treatment when compared to the other treatments.

Additional key words: antagonism, pathogen, vascular disease, 'ICA Tundama' variety

Fecha de recepción: 12 de julio de 2005
Aceptado para publicación: 11 de mayo de 2006

¹ Microbióloga, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. e-mail: caven74@yahoo.com

² Profesor titular, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. e-mail: garbelaezt@unal.edu.co

³ Investigador, Programa nacional de manejo integrado de plagas (MIP), Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Centro de Investigaciones Tibaitatá, Mosquera (Colombia).

Introducción

UNO DE LOS PROBLEMAS FITOSANITARIOS de gran importancia en Colombia y en la zona andina es el marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. El manejo convencional de esta enfermedad por los agricultores es difícil, teniendo que recurrir a la aplicación de fungicidas que, a veces, resultan deficientes, incrementan los costos de producción, contribuyen a la contaminación ambiental y deterioran la biota del suelo.

La rotación de cultivos es un método de control utilizado que sólo proporciona una reducción parcial del inóculo del patógeno. El tratamiento químico de las semillas puede eliminar parcialmente el problema al controlar el inóculo presente en ellas, pero sin ocasionar mayor efecto contra el patógeno en el suelo. La resistencia genética como alternativa de control, a pesar de ser la de más fácil aplicación, es una solución de difícil desarrollo, en especial para hongos vasculares, por la complejidad del medio en que se presenta la interacción patógeno-hospedero y por el tiempo que toma la obtención de variedades resistentes.

Por ello, ante las limitaciones en el manejo de la enfermedad, surge la necesidad de plantear alternativas sustitutivas o complementarias a las existentes, como el control biológico, importante para la recuperación del equilibrio de los agroecosistemas y para el aprovechamiento del potencial antagonista natural de ciertos microorganismos contra patógenos vulnerables.

Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar, bajo condiciones de invernadero, el efecto biocontrolador del hongo *Trichoderma* sp., de la endomicorriza *Entrophospora colombiana* y de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* sobre el marchitamiento vascular del frijol ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, como contribución al desarrollo de una alternativa para el manejo integrado de la enfermedad.

Materiales y métodos

Los aislamientos de *Trichoderma* sp. utilizados se obtuvieron de diversos suelos de la Sabana de Bogotá. *P. fluorescens* provino del Banco del Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC) de la Universidad de los Andes y el inóculo de la micorriza, de plantas de yuca del Banco de Microorganismos de Corpoica, Centro de Investigación Tibaitatá.

Las pruebas de antagonismo se realizaron mediante la técnica de enfrentamiento en cajas de Petri con medio PDA (papa-dextrosa-agar), colocando el patógeno en un disco de PDA de 5 mm de diámetro a 1 cm del borde de la caja y, de manera equidistante, en forma opuesta se colocó un disco de micelio de *Trichoderma* sp. Esta prueba se evaluó mediante la fórmula:

$$\text{Antagonismo (\%)} = \left[\frac{\text{crecimiento del antagonista} - \text{crecimiento del patógeno}}{\text{crecimiento del patógeno}} \right] \cdot 100$$

Las pruebas de antagonismo entre *F. oxysporum* y *P. fluorescens* se realizaron de dos maneras: se sembró un disco de agar con el patógeno en un extremo de la caja de Petri y en el otro, la bacteria en estría, evaluando el crecimiento del patógeno cada día. La segunda prueba de antagonismo se realizó sembrando la bacteria en todo el medio de cultivo a punto de solidificarse y, a los 4 d, se sembraron 3 discos del patógeno sobre el medio, evaluando de manera directa cada 2 d el crecimiento de *F. oxysporum*.

Pruebas de patogenicidad

Se transplantaron semillas de frijol germinadas a suelo inoculado con el patógeno en una relación de 30% en peso por materia de 2 kg. La evaluación se realizó a partir del sexto día, con el propósito de registrar el número de plantas con síntomas del marchitamiento vascular. El patógeno se aplicó 2 d antes de la siembra, mediante la inoculación de 4 g de sustrato (arroz) conteniendo el hongo en cada materia y su mezcla posterior con el suelo. *Trichoderma* sp. se aplicó de manera similar 5 d antes de la siembra, en una dosis de 2 g por materia. La bacteria *P. fluorescens* se aplicó al momento de la siembra mediante la inmersión de las semillas en una suspensión bacteriana con una concentración $1 \cdot 10^8$ ufc \cdot mL⁻¹. De la micorriza se aplicaron en el momento de la siembra 2 g por materia del inóculo completo.

Tratamientos. Los tratamientos definidos para la investigación fueron: 1) testigo absoluto, sin ningún microorganismo adicional; 2) *F. oxysporum*; 3) *F. oxysporum* + *Trichoderma* sp.; 4) *F. oxysporum* + *E. colombiana*; 5) *F. oxysporum* + *P. fluorescens*; 6) *F. oxysporum* + *Trichoderma* sp. + *E. colombiana*; 7) *F. oxysporum* + *P. fluorescens* + *E. colombiana*. Se utilizó un diseño completamente al azar con 7 tratamientos y 10 repeticiones.

Las evaluaciones se realizaron al momento de la floración, del llenado de vainas y la cosecha, utilizando

la escala establecida por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) (Abawi y Pastor-Corrales, 1990). En cada evaluación se tomaron 10 plantas por tratamiento. Las variables para evaluar fueron: longitud de la parte aérea y de la raíz, número de vainas por planta, número de granos por planta, número de granos por vaina, incidencia y severidad de la enfermedad, tasa de colonización y esporulación de la micorriza. La información obtenida se sometió a análisis de varianza, pruebas de rango múltiple y correlaciones.

Resultados y discusión

Prueba de antagonismo in vitro

En las pruebas de antagonismo in vitro, *Trichoderma* sp. inhibió el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, deteniendo su crecimiento a los 3 d; a los 7 d se presentó una invasión total del micelio del patógeno. *Trichoderma* sp. se caracterizó por un crecimiento radial, capaz de inhibir 64% el crecimiento de *F. oxysporum*, en tanto que *P. fluorescens* ocasionó una inhibición parcial del crecimiento de *Fusarium oxysporum*, sin formación del micelio aéreo característico y sin tomar la coloración típica de la colonia.

Pruebas de patogenicidad en plantas de frijol

En la prueba de patogenicidad en plantas de frijol se confirmó el carácter patogénico de la cepa de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* utilizada, con 70% de infección y un índice de severidad entre 5 y 7.

Las observaciones realizadas permitieron confirmar el efecto negativo de la infección causada por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* sobre el desarrollo normal de la planta, constituyéndose en un factor depresivo importante de su crecimiento. El promedio de altura de las plantas en el tratamiento únicamente con el patógeno fue, para la evaluación en floración, 12,03 cm y, al momento de la cosecha, 7,53 cm.

La mayor altura de las plantas se presentó en el tratamiento con *P. fluorescens*, con un valor promedio de la planta al momento de la floración de 32,87 cm y del llenado de vainas de 21,56 cm. Con los demás tratamientos se presentaron alturas menores que con el tratamiento bacteriano, pero mucho mayores que con la inoculación de *F. oxysporum* solo. La actividad protectora de la micorriza *E. colombiana* no fue muy eficiente en estimular el crecimiento de la planta, por su capacidad de coloniza-

ción lenta, lo que se traduce en una protección pobre y muy deficiente contra el patógeno; sin embargo, estos resultados no coinciden con lo reportado por Allen (1996) y Sylvia et al. (1999) sobre la acción protectora de esta micorriza, descrita ampliamente en la literatura.

La aplicación de la combinación de micorriza *E. colombiana* con *Trichoderma* sp. y con *P. fluorescens* no mostró ningún efecto sinérgico. En las aplicaciones con *Trichoderma* sp. se esperaba una mejor respuesta en el crecimiento de las plantas, al considerar su efecto benéfico sobre diversas clases de plantas (Campbell, 1989; Elías et al., 1993; Borda y Arbeláez, 1993; Carver et al., 1996); sin embargo, fue menos eficiente en estimular el crecimiento de la planta, aun cuando se encontraba en asocio con un hongo micorrizógeno. Esta respuesta podría sugerir que la combinación de *Trichoderma* sp. y *E. colombiana* presenta efectos sinérgicos en contra de la acción bioestimulante de los microorganismos sobre el crecimiento de la planta. Eventos similares podrían haber sucedido en la combinación *E. colombiana* y *P. fluorescens*, tratamiento que presentó un comportamiento prácticamente igual al anterior.

Todos los tratamientos mostraron un buen crecimiento de las raíces, con excepción del tratamiento con el patógeno solo, que presentó al momento de la floración una longitud de 10,33 cm y de la cosecha tan sólo 4,00 cm, resultado de la infección y del daño generalizado por la presencia del patógeno.

En cuanto a los tratamientos de control biológico, todos superaron significativamente el crecimiento, con respecto al testigo de infección y al testigo absoluto. Únicamente la aplicación individual de *P. fluorescens* presentó un menor crecimiento de las raíces. Una primera observación de este resultado indica que no existió una relación directa entre la altura de la planta y la longitud de la raíz, ya que el testigo absoluto presentó la mayor altura de la planta, pero también uno de los menores crecimientos de la raíz. Esta relación se observó en los demás tratamientos, aunque con diferencias menos marcadas.

El tratamiento con mayor estímulo al crecimiento radical fue con *E. colombiana* en forma individual, seguido de la combinación de la micorriza con *Trichoderma* sp. y del tratamiento de la micorriza más *P. fluorescens*. A lo largo de todo el ensayo se destacó el gran crecimiento de las raíces, de manera similar a lo reportado por Sieverding (1983), Allen (1989) y Sánchez y Sieverding

(1984), ya que la micorriza le facilita a las raíces la exploración de una mayor área de suelo. Estos resultados fueron semejantes a los de Duarte y Gil (1997) para el control biológico de *F. oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, quienes además encontraron un buen estímulo de la micorriza sobre el crecimiento radical del frijol con la aplicación de la micorriza *Acaullospora mellea*.

Severidad de la enfermedad

En todos los tratamientos se evidenció la sintomatología típica de la enfermedad ocasionada por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Los síntomas se presentaron con una severidad alta en el tratamiento testigo de infección, mostrando la raíz un gran número de lesiones y una disminución significativa de raíces secundarias y raicillas, de manera similar a lo registrado por Abawi y Pastor-Corrales (1990). La evaluación del daño ocasionado por el patógeno a través de todo el ciclo del cultivo permitió observar cómo en el testigo de infección la severidad de la lesión alcanzó en el momento de la floración el grado 6,0 y en la cosecha 7,4, lo que significa que aproximadamente 50% de las hojas y ramas presentaron marchitamiento, clorosis, necrosis limitada y enanismo de las plantas.

En términos generales, en los tratamientos para el control biológico de la enfermedad se presentaron infecciones poco severas, destacándose a aquellos con aplicación de *Trichoderma* sp., que mostraron al momento de la floración una severidad de 1,4, del llenado de vainas de 3,0 y de la cosecha de 2,2. La aplicación de la micorriza *E. colombiana* combinada con *Trichoderma* sp. produjo en el momento de la floración y del llenado de vainas un grado de severidad de 2,2 y en la cosecha de 2,6; valores que representan síntomas escasos de la enfermedad y decoloración vascular limitada en el cuello de la raíz y en algunas raíces secundarias.

El tratamiento con *E. colombiana* + *P. fluorescens* presentó en el momento de la floración una severidad de 2,2 grados y en la cosecha de 3,0, seguidos por el tratamiento con aplicación individual de la micorriza: en la floración con 2,8 grados de severidad, en el llenado de vainas con 3,6 grados y en la cosecha con 3,0. Estos tratamientos también se diferenciaron del testigo de infección en forma altamente significativa. Los daños en las plantas fueron leves, con presencia de pocas hojas marchitas, decoloración vascular limitada en los tejidos radicales y en el hipocotilo; el desarrollo de la planta no se afectó en forma significativa, como tampoco la capacidad productiva de la planta.

Es importante aclarar que la supresión de la enfermedad por *Trichoderma* sp. se encuentra influenciada positivamente por la presencia de los elementos B, Fe, Mg y Zn y por altos contenidos de materia orgánica –que se encontraban en cantidades apropiadas en el suelo utilizado– y por su capacidad de adaptación a suelos ácidos.

Una de las razones para explicar la baja eficiencia de la cepa de *E. colombiana* pudo ser que la cepa utilizada perdió actividad o que el método de multiplicación, la época, dosis y frecuencia de aplicación no fueron los más adecuados para lograr una acción eficaz y duradera como antagonista.

En cuanto a las micorrizas, se ha visto que factores biológicos como el crecimiento del tubo germinativo, la penetración en la raíz y la formación de aporosios, pueden estar influenciados por otros microorganismos existentes en el suelo y, por esto, los resultados obtenidos con la micorriza quizás no fueron tan efectivos, contrario a los resultados obtenidos por Pérez y Leguizamón-Caycedo (1998) en el control de *Fusarium* spp. con la combinación de micorrizas nativas colombianas y *Pseudomonas* spp.

El tratamiento más eficiente en la protección de la planta fue la aplicación de *P. fluorescens*, que presentó una severidad de 5,8 al momento de la floración, reduciéndose a 4,4 en el llenado de vainas y finalizó al momento de la cosecha en 3,8, lo que se tradujo en aproximadamente 15%-20% de hojas y ramas marchitas, clorosis y necrosis limitada y lesiones, tanto en las raíces principales y secundarias, como en el hipocotilo.

Lo anterior contrasta con los múltiples ensayos registrados en los que se ha utilizado *Pseudomonas* sp. como biocontrolador, con disminución de la severidad de varias enfermedades, como marchitamientos vasculares (Xi et al., 1996; Schisler et al., 1997). Por lo tanto, es posible inferir que los resultados obtenidos pueden deberse a diferencias en las condiciones de pH y el contenido de materia orgánica del suelo, la cantidad del inóculo aplicado y la capacidad controladora de la cepa, pues, aunque inhibe el normal desarrollo del hongo, no detiene de manera total el crecimiento micelial. Es importante tener en cuenta que, aun cuando las plantas presentaron una severidad significativa de la infección, llegaron a producción y no mostraron pérdida total de la masa radical, comparado con el testigo infectado.

El comportamiento general de los tratamientos para el control biológico de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* indica

que los antagonistas utilizados ejercieron algún grado de control de la enfermedad, protección que no fue del todo suficiente. Una alternativa para mejorar el efecto benéfico de los antagonistas podría ser aumentar la dosis aplicada, concentrando las aplicaciones hacia la época de siembra y aumentando el número de aplicaciones durante el ciclo de cultivo, y, por supuesto, controlar la calidad de las cepas.

Incidencia de la enfermedad

La incidencia de la enfermedad, determinada por el número de plantas enfermas, fue alta, observándose pocas plantas muertas.

En los tratamientos con aplicación de *E. colombiana* en forma individual y combinada con *Trichoderma* sp. y *P. fluorescens*, se evidenció un aumento importante en el volumen de la raíz y en el número de raicillas; este resultado pudo haber incrementado las posibilidades de que las plantas fueran infectadas por el patógeno, al existir un contacto mayor, lo que se tradujo en una mayor incidencia de la enfermedad en el tratamiento con la micorriza o en la combinación con *P. fluorescens*.

Cabe destacar que en los tratamientos con *Trichoderma* sp. solo o combinado con la micorriza y en el tratamiento de la bacteria sola se presentó una incidencia menor de la enfermedad a lo largo del estudio, lo que podría indicar una protección mayor de la raíz por parte de estos antagonistas. Sin embargo, es de resaltar que la incidencia de la enfermedad en todos los tratamientos fue en general muy alta, lo que indica muy poca eficiencia de los tratamientos en la prevención de la infección.

Al considerar la intensidad de la enfermedad por tratamiento (relación de la incidencia con la severidad), se pudo observar que este indicador fue muy alto para la época de la cosecha en todos los tratamientos, en comparación con el testigo absoluto.

Con base en los resultados sobre infección se evidencia que, en comparación con el testigo absoluto, todos los tratamientos presentaron un alto grado de infección, destacándose la aplicación de *Trichoderma* sp. como el tratamiento con mayor protección para las plantas de frijol, ya que para la cosecha presentó la menor incidencia y los menores daños en las raíces y en las plantas. Este tratamiento mantuvo un comportamiento similar a lo largo de todo el ciclo de cultivo, por lo que merece considerarse como una posibilidad para el manejo

de esta enfermedad, siempre y cuando se agoten otras instancias en la investigación, como un aumento en la concentración de inóculo y en la dosis, así como la modificación de las frecuencias de aplicación.

Colonización y número de esporas de *E. colombiana*

Para la variable porcentaje de colonización de la micorriza *E. colombiana*, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de la micorriza, sola y combinada con *Trichoderma* sp. y con *P. fluorescens*. La colonización de las raíces de frijol presentó variaciones amplias entre los tratamientos aplicados.

Cabe anotar que *E. colombiana* no ha sido observada en suelos con pH mayor a 5,5 y que la presencia de esta micorriza no se ha relacionado con otras características del suelo diferentes al pH (Sánchez y Sieverding, 1984). Esto indica su adaptación a condiciones muy específicas y que con el pH del suelo utilizado pudo verse afectada la sobrevivencia de las esporas.

La colonización por *E. colombiana* al momento de la floración fue 54,2%, al llenado de vainas, 68,8% y a la cosecha, 47,7%. Sin embargo, se esperaba una mayor infección de la micorriza al momento de la cosecha, con respecto a las dos evaluaciones anteriores, aspecto que no se observó en la presente investigación.

El tratamiento con la micorriza en combinación con *P. fluorescens* presentó la infección más baja, con 37,6% al momento de la floración, 33,9% al llenado de vainas y 34,0% a la cosecha. Los factores causantes de la baja colonización de las plantas podrían estar relacionados con el sinergismo entre los dos organismos, ya que ellos compiten por nutrientes del suelo y por espacio en la raíz; con una reducción en la viabilidad de las esporas o con una germinación deficiente.

La baja tasa de infección de la micorriza también podría deberse a un contacto irregular con las raíces del frijol y a su distribución al azar en el suelo, lo que podría evitarse con una inoculación de las plántulas en el momento de la siembra. Este tratamiento con la micorriza presentó una menor esporulación: 19,9 al momento de la floración, 12,8 al llenado de vainas y 18,8 a la cosecha.

El tratamiento de la micorriza más *P. fluorescens* presentó un número de esporas similar al de la micorriza sola, con 28,0 esporas al momento de la floración, 11,1

esporas al llenado de vainas y 15,5 a la cosecha. Esta baja esporulación podría indicar que, ante las limitaciones para la infección, el proceso reproductivo se vio afectado; esta situación quizá esté también relacionada con la invasión de la raíz y con la presencia de algunos factores desfavorables a la esporulación.

Literatura citada

- Abawi, G. y M. Pastor-Corrales. 1990. Roots rots of beans in Latin America and Africa: Diagnosis, research methodologies and management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Colombia).
- Allen, M. 1996. The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the 20th century and a peek into the 21st. *Mycology Res.* 100, 769-782.
- Borda, F. y G. Arbeláez. 1993. Determinación del antagonismo del aislamiento T-95 de *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* en plantas de pepino cohombro. *Agronomía Colombiana* 10, 45-51.
- Campbell, R. 1989. *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Carver, C., D. Pitt y D. Rhodes. 1996. An etiology and biological control of *Fusarium wilt* of pinks (*Dianthus caryophyllus*) using *Trichoderma aureoviride*. *Plant Pathol.* 45, 618-630.
- Duarte, M. y E. Gil. 1977. Control biológico de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en frijol *Phaseolus vulgaris*, mediante la acción combinada e individual de *Trichoderma* sp. y micorrizas arbusculares. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá.
- Elías, R., O. Arcos y G. Arbeláez. 1993. Antagonismo de algunas especies de *Trichoderma* aisladas de suelos colombianos para el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. *Agronomía Colombiana* 10, 52-61.
- Pérez, J. y J. Leguizamón-Caicedo. 1998. Interacciones entre micorrizas nativas, *Pseudomonas* spp. fluorescentes y calcio en el manejo de *Fusarium* spp. en espárragos. *Cenicafé* 49, 211-223.
- Sánchez, M. y E. Sieverding. 1984. Estudio de la fitosanidad de inóculos de micorriza vesículo arbuscular. *Suelos Ecuatoriales* 14, 149-150.
- Schisler, D.A., P.J. Silinger y R.J. Bothast. 1997. Effects of antagonist cell concentration and two-strain mixtures on biological control of *Fusarium dry rot* of potatoes. *Phytopathol.* 87, 177-183.
- Sieverding, E. 1983. *Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo arbuscular en el laboratorio*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Colombia).
- Sylvia, D., B. Graham y T. Garner. 1999. *Principles and applications of soil microbiology*. Prentice Hall, New York.
- Xi, K., H. Stephens y H. Verma. 1996. Application of formulated rhizobacteria against root rot of field pea. *Plant Pathol.* 45, 1150-1158.