



Orinoquia

ISSN: 0121-3709

orinoquia@hotmail.com

Universidad de Los Llanos

Colombia

Borrero, C. A.; Silva H., M. R.

Efectos de trichoderma (in vitro) en los microorganismos no patógenos descomponedores de la materia orgánica de un suelo oxisol clase IV del piedemonte llanero

Orinoquia, vol. 9, núm. 2, 2005, pp. 6-14

Universidad de Los Llanos

Meta, Colombia

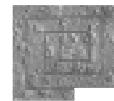
Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89690202>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



ARTÍCULO ORIGINAL

Efectos de *Trichoderma* (in vitro) en los microorganismos no patógenos descomponedores de la materia orgánica de un suelo oxisol clase IV del piedemonte llanero

Effects of *Trichoderma* (in vitro) in the microorganisms not patógenos in process of the organic matter of a floor oxisol class IV of the piedemonte llanero

Febrero de 2005

BORRERO, C. A.¹; SILVA H. M. R.²

¹Estudiante del Programa de Ingeniería Agronómica. ²Docente investigadora del programa de Ingeniería Agronómica de la Unillanos.

Recibido en marzo 8 de 2005 • Aprobado en junio 29 de 2005

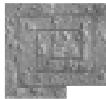
R E S U M E N

Los microorganismos son componentes importantes del suelo constituyéndose en su parte vital y son los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo de los procesos bioquímicos. La diversa cantidad de microorganismos que se encuentran en una fracción del suelo cumplen funciones determinantes en la transformación de los componentes orgánicos e inorgánicos. En el suelo existe un equilibrio microbiológico en donde naturalmente las poblaciones se autorregulan.

En los últimos años se ha venido utilizando en la agricultura el uso del hongo heterótrofo del género *Trichoderma*, como controlador de organismos del suelo, dando buenos resultados antagonista, que puede alterar el equilibrio microbiológico que existe en el suelo.

Por lo anterior se hizo necesario realizar pruebas de confrontación o pruebas antagonicas (in vitro) en el laboratorio de Microbiología Vegetal de la Universidad de los Llanos, con el fin de determinar el tipo de interacción de dos cepas de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, con aislamientos de los hongos *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinularis*, *Penicillium parvum*, *Rhizopus cohnii* y las Bacterias, *Pseudomonas sp* y *Bacillus sp*,

microorganismos benéficos descomponedores de la materia orgánica de un suelo Oxisol de terraza alta de piedemonte llanero. La cepa de *Trichoderma viride* se aisló de los lotes comerciales de la granja Universidad de los Llanos, vereda Barcelona, Villavicencio Meta Colombia. Y la cepa de *Trichoderma harzianum*, es propiedad del laboratorio de microbiología y fitopatología de la Universidad de los Llanos. Discos de Micelio de cada hongo se colocaron en los extremos de una placa o caja de petri con medio agar, papa, y dextrosa (PDA) (en caso de los hongos). Para todos los enfrentamientos se realizaron tres (3) repeticiones y el material fue incubado en condiciones de laboratorio (26° – 28° C y 12/12 horas. Luz-oscuridad). En las cajas donde se obtuvieron las colonias de bacterias se colocaron cuatro (4) discos de micelio del hongo *Trichoderma*, simulando un cuadrado sobre la placa o caja de petri con medio PDA + Agar Topping, (relación 1:1). Las cepas de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en relación con los microorganismos heterótróficos se evaluó: crecimiento micelial (observación macroscópica) e interacciones entre las hifas (observaciones microscópicas). En el caso de las bacterias, interactuando con *Trichoderma* se llevaron a cabo sólo observaciones macroscópicas. Los resultados indican que las cepas de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, presentaron gran capacidad antagonica: *Aspergillus fumigatus*,



Aspergillus flavus, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinisularis*, *Rhizopus cohnii* y las bacterias *Pseudomonas* sp y *Bacillus* sp. El crecimiento de *Penicillium parvum* no fue impedido por ninguna de las dos cepas de *Trichoderma*.

Se concluye que *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, son microorganismos con alta velocidad de crecimiento, alta competencia por espacio y por consiguiente pueden alterar el crecimiento de los hongos y bacterias que descomponen la materia orgánica del suelo, reduciendo la población microbial y de esta manera posiblemente disminuyendo los procesos biológicos.

PALABRAS CLAVES: **Antagonismo:** Acción letal. Perjudicial o inhibidora del crecimiento de una especie por otra especie. **Hongo:** Organismo heterótrofo. **Heterótrofo:** Organismo que depende de la materia orgánica para el suministro de energía. **Antibiosis:** Esta ocurre cuando hay producción de metabolitos tóxicos o antibióticos de un organismo con acción directa sobre otro. **Competencia:** Esta ocurre cuando dos o más organismos demandan un mismo recurso vital. **Oxisol:** Orden que se le da a un suelo, este tiene características de color rojo, ácidos y senescentes. **Bacterias:** Organismos procarióticos, no presentan organelos en el citoplasma.

S U M M A R Y

Microorganisms are the most important components in the soil. They constitute its vital part and are responsible for the transformation and development dynamics. The diverse quantity of microorganisms that we find in a soil fraction performs determined functions in the transformation of organic and inorganic components. In the soil exists a microbiological equilibrium where populations are naturally autoregulated.

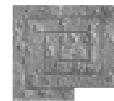
during the last years *Trichoderma* has been using in agriculture as a soil pathogenic controller, giving good results as an antagonist, but this high pathogenic power can alter the microbiological equilibrium that exists in the soil.

Taking in consideration the previous fast, it was necessary to do confrontation and antagonistic assay (*in vitro*) in the plant Microbiology and Pathology Laboratory at the University of Llanos, in order to determine the type of interaction between two strains, *Trichoderma harzianum* and another of *Trichoderma viride*, with fungi *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinisularis*, *Rhizopus cohnii* and the Bacteria's, *Pseudomonas* sp and *Bacillus* sp, benefic microorganisms that are decomposers of organic matter of a soil oxisol type IV. The strain of *Trichoderma viride* was isolated in commercial lots of the farm at the University of Llanos. Disks of mycelium from each fungi were placed in the ends of a Petri disk with agar medium potato and dextrose (PDA) (in fungi case) for all the confrontations it was

made three (3) repetitions and the material was incubated in Laboratory conditions of 26° - 28°C and 12/12 hours of dark light. With bacterium four (4) disks of the mycelium fungi *Trichoderma* were placed and a square on the Petri disk a medium PDA + Agar Topping, (relations 1:1). The strains of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride*. Interacting with benefic microorganisms decomposers of the organic matter was evaluated the following: mycelia growth (macroscopic observation) and interactions between hyphae (microscopic observations). In the treatment of the Bacterium. Interacting with *Trichoderma* it was carried out only macroscopic observations. Results indicate that the strain of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride*, showed great antagonistic capacity for its high growth, high competence for space and limiting the growth of *Aspergillum fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinisularis*, *Rhizopus cohnii* and the bacterium *Pseudomonas* sp and *Bacillus* sp, *Penicillium parvum* growth was not limited by none of the two strain of *Trichoderma*.

It was concluded that *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* are microorganisms with high growth speed and high competence for space. Therefore these strains can alter the growth of the fungi and bacterium that decompose organic matter of the soil. Reducing the microbial population and therefore, it is possible they can lower the biological processes.

Villavicencio. February of 2005.



INTRODUCCIÓN

Los Hongos, Bacterias y Actinomicetos del suelo son trabajadores anónimos que hacen que este sea fértil, descomponiendo la materia orgánica hasta la más mínima expresión, haciendo posible la absorción de muchos compuestos y elementos por parte de las plantas.

Un suelo fértil es aquel que tiene una gran biodiversidad de microorganismos, que mediante las actividades liberan nutrientes en forma permanente para alcanzar un balance que permita un buen desarrollo vegetal, y de forma natural interactúan entre los microorganismos, regulando entre sí las poblaciones; el hombre está manejando en sus prácticas agrícolas, bajo el nombre de agricultura biológica, en

donde manipula un organismo para controlar otro organismo, pero poco mide la magnitud de esta interacción, y esto ha generado la utilización del hongo *Trichoderma* en la agricultura biológica por su agresividad antagónica, contrarresta no sólo microorganismos patógenos del suelo, sino también, microorganismos benéficos cuya función es descomponer la materia orgánica del suelo. Las especies de *Trichoderma* más utilizados son: *T. harzianum* y *T. viride*, según la literatura estos tienen un alto poder antagónico; por tal razón el principal objetivo fue identificar el efecto de estas dos especies en algunos microorganismos benéficos en suelo Oxisol, clase IV del piedemonte llanero.

MÉTODOLOGÍA

LOCALIZACIÓN

Este trabajo se realizó en la granja de la Universidad de los Llanos, vereda Barcelona, latitud Norte de 4° 3' y longitud Oeste de 63° 38', altura 387 m.s.n.m, precipitación anual promedio 3.479. mm, humedad relativa 82%, temperatura media anual 25.2 °C, temperatura máxima anual 32.5 °C, temperatura mínima anual 18.5 °C, y en las instalaciones del laboratorio de microbiología vegetal y fitopatología, de la Universidad de los Llanos .Meta. Colombia.

RECOLECCIÓN O TOMA DE LAS MUESTRAS DE SUELO

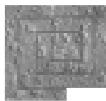
Las muestras se tomaron del lote de cultivos comerciales, de la granja Unillanos vereda Barcelona, este lote tiene aproximadamente 4.5 hectáreas. Se recolectaron 5 submuestras por hectárea, a una profundidad de 20 cm., con un peso de 250 gramos de suelo cada una, las 5 submuestras se toman sistemáticamente en forma de X en la hectárea, estas muestras fueron llevadas a un recipiente de plástico, se mezclaron rápidamente y se tomó un (1) kilogramo de suelo (por hectárea), esta muestra se almacenó en bolsa plástica transparente, dejando un espacio libre dentro de la bolsa como cámara de aire, luego se empacaron en papel manila y se colocaron en la nevera a una temperatura de 14 °C. La recolección de estas muestras se hizo en las 4.5 hectáreas. El número de muestras a analizar: Una por hectárea. (Total: 4).

Las muestras de suelo se recolectaron cerca al

sistema radicular del cultivo que esté establecido en dicho lote.

PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

Se pesaron 10 gramos de suelo por muestra, capacidad de campo, luego se colocaron en un erlenmeyer que contenía 90 ml de agua destilada estéril, posteriormente se agitaron por 20 a 30 minutos; se traspasó 1 ml o (0.1 ml) de esta solución a tubos de ensayos que contenían 9 ml o (0.9 ml se utilizaron tubos ependors para trabajar con micro pipetas) de agua destilada estéril. Se agitó por un minuto y se transfirió a otro tubo de ensayo que contenían 9 ml de agua destilada estéril (método de diluciones). Repetir este procedimiento, hasta alcanzar las diluciones deseadas. Las diluciones apropiadas son: 1×10^{-4} y 1×10^{-5} para bacterias, observar a las 24 y 48 horas; 1×10^{-4} y 1×10^{-5} para hongos, observar en 72 y 96 horas. Se aplicó 1 ml o 0.9 ml de cada dilución sobre la superficie de un medio de cultivo específico y con ayuda de un rastrillo estéril realizar un movimiento rotatorio para toda la superficie de la caja. Se incubaron por 2-3 días entre 22 y 30 °C para realizar un recuento de colonias. Despues de hacer las observaciones macroscópicas y microscópicas e identificados los hongos: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus cohnii* y *Micogone*; las bacterias: *Bacillus* y *Pseudomonas*, se obtuvieron los cultivos puros de cada microorganismo, se realizaron las pruebas antagónicas entre los hongos *Trichoderma viridae* y *Trichoderma harzianum* y los organismos anteriormente mencionados. Cada organismo fue sembrado en su medio específico y estará acompañado del



hongo *Trichoderma*, las pruebas se instalaron con tres repeticiones tanto para los hongos como para las bacterias.

En el caso de los Hongos:

En una caja de petri con medio de cultivo específico PDA; en uno de sus extremos se siembra *Trichoderma* y en el otro extremo opuesto se siembra el hongo no patógeno (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Micogone*), uno a uno, para cada hongo se siembra un disco de micelio (de 6 mm de diámetro) en partes iguales, se delimita el centro de la caja de petri con una laminilla que servirá de regla y de guía para determinar quién invade más rápido el medio, hacer observaciones macroscópicas y microscópicas para determinar interacciones entre ellos.

En el caso de las Bacterias:

En una caja de petri que contenía medio de cultivo específico para las Bacterias (*Bacillus sp* y *Pseudomonas sp*) y para *Trichoderma* (Mezclar PDA y Agar Topping en proporción 1:1); se sembró la bacteria en todo el medio esparciéndola con el rastillo y sembrar encima un disco de micelio (de 6 mm. aproximadamente de diámetro) del hongo *Trichoderma*, se deben ubicar cuatro discos de micelio uniformemente simulando un cuadro dentro de la caja petri; hacer observaciones macroscópicas para determinar interacciones entre los dos microorganismos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cepa de *Trichoderma viride*, utilizada para evaluar su efecto sobre los microorganismos no patógenos descomponedores de la materia orgánica de un suelo Oxisol clase IV del piedemonte llanero, fue aislada de los lotes comerciales de la granja UNILLANOS, vereda Barcelona. Villavicencio Meta (Figura: 01). Y la cepa de *Trichoderma harzianum*, evaluada corresponde a una cepa comercial del laboratorio de microbiología vegetal y fitopatología de la Universidad de los Llanos (Figura: 02).

Los microorganismos no patógenos descomponedores de la materia orgánica presentes en las muestras de suelo fueron:

HONGOS:

Aspergillus niger, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium parvum*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinus* y *Rhizopus cohnii*.

a) Medios de cultivos y disoluciones:

● **Bacterias:** Glucosa- Peptona, Extracto de levadura y agar (GPLA) o (Agar Topping). Disoluciones: 1×10^{-4} y 1×10^{-5} . pH: 6.8 - 7.2.

● **Hongos:** Papa, Dextrosa y Agar (PDA). Disoluciones: 1×10^{-5} y 1×10^{-6} . pH: 5.5.

b) Las cajas con los cultivos se dejarán incubar durante 5 a 12 días a la temperatura ambiente (28 a 30 °C), incluso la incubación se puede llevar hasta más de 30 días. Al final del periodo de incubación, se identificarán los efectos o interacciones que existen entre el hongo *Trichoderma* y los demás organismos (Literal f).

DISEÑO EXPERIMENTAL

Dado que el trabajo de investigación se realizó bajo condiciones controladas se utilizó el diseño completamente al azar, utilizando tres repeticiones.

Tratamientos: Una cepa de *Trichoderma viride* y otra de *Trichoderma harzianum*, frente a 7 (siete) hongos, y 2 (dos) bacterias.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos en cada una de las repeticiones o por efecto del hongo *Trichoderma sp* con respecto a los demás microorganismos, se organizaron mediante la estadística cualitativa. Para una mejor interpretación de datos se usaron fotografías.

BACTERIAS:

Bacillus sp., y *Pseudomonas sp.*

En las pruebas antagonicas o pruebas de confrontación de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en antagonismo con los aislamientos de los Hongos, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinus*, *Rhizopus cohnii*, *Penicillium parvum* y las Bacterias, *Pseudomonas sp* y *Bacillus sp*; se presentó por parte de *Trichoderma* una mayor velocidad de crecimiento, alta competencia por espacio, produciendo posiblemente enzimas, como lo reportan los autores (Lorito et al, 1994; Harman et al, 1995; Ordoñez, 2000.), con base a esto se vio limitado el crecimiento de los microorganismos heterótroficos, con excepción de *Penicillium parvum* que no fue impedido su crecimiento.

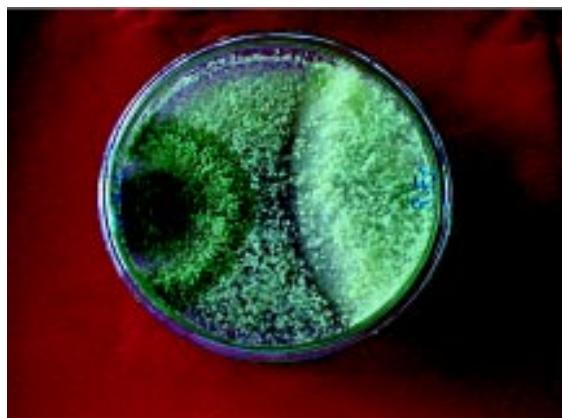
Figura: 01. *Trichoderma viride*.Figura: 02. *Trichoderma harzianum*.

Muchos microorganismos tienen la capacidad de producir antibióticos en medio de cultivo y bajo condiciones de campo, lo cual es la más fuerte evidencia de la posible acción de este tipo de compuestos como mecanismo de antagonismo de *Trichoderma*, la competencia entre organismos siempre ha existido más aún cuando se trata de agentes de control biológico, que limitan el crecimiento, desarrollo y colonización rápida del sustrato.

Trichoderma como agente de control biológico, tiene la capacidad de colonizar o adaptarse a varias clases de sustratos, en condiciones controladas (in Vitro) demostró adaptabilidad a los medios de cultivo utilizados y gran destreza para competir por el espacio y posiblemente por el alimento, dando como resultado una inhibición o limitación del crecimiento de los or-

ganismos que fueron confrontados; si esto sucede "in Vitro", debe suceder en condiciones de campo, ya que la competencia entre organismos siempre ha existido en la naturaleza.

Para el caso *Trichoderma*. En la interacción con. *A. fumigatus*, *A. Flavus*, *A. niger*, *A. repens*, *M. petrinisularis* y *R. cohnii*. *Trichoderma* inhibió o limitó el crecimiento de estos hongos, según observaciones macroscópicas el micelio de *Trichoderma harzianum* y *T. viride*. Invade rápidamente los medios de cultivo, compitiendo por espacio y nutrientes (Figura: 3 y 4). En las observaciones microscópicas en los objetivos 40x y 100x, no se encontraron interacciones de lisis, predación, estrangulación y parasitismo. No existen interacciones negativas entre las hifas de estos hongos (Figura: 5, 6, 7, 8).

Figura: 3. *T. harzianum*. Vs. *R. cohnii*.
A las 40 horas de incubación.Figura: 4. *T. harzianum*. Vs. *R. cohnii*.
A los 2 meses de incubación.

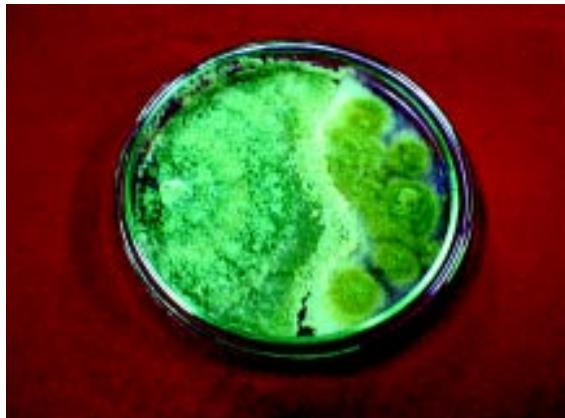


Figura: 05. *T. viride*. Vs. *A. niger*.
A los 5 días de incubación.



Figura: 06. *T. viride*. Vs. *A. niger*.
A los 3 meses de incubación.

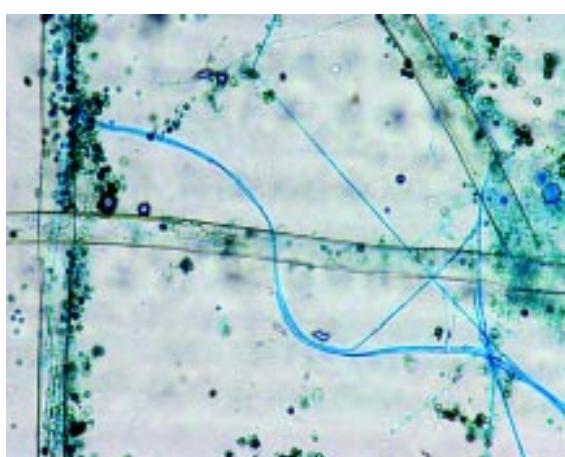


Figura: 07. *T. harzianum*. Vs. *A. fumigatus*. (40x).

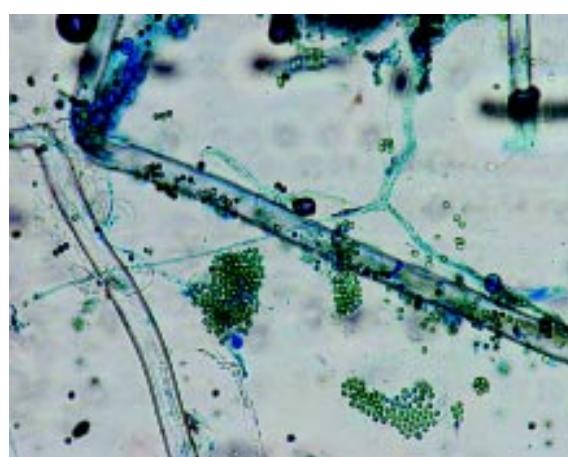


Figura: 08. *T. viride*. Vs. *A. fumigatus*. (40x).

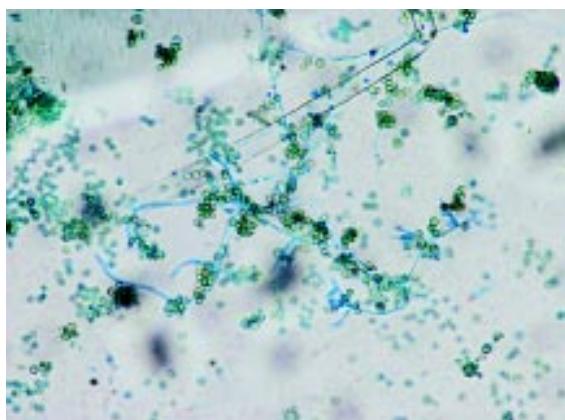


Figura: 09. *T. harzianum*. Vs. *A. repens*. (40x).

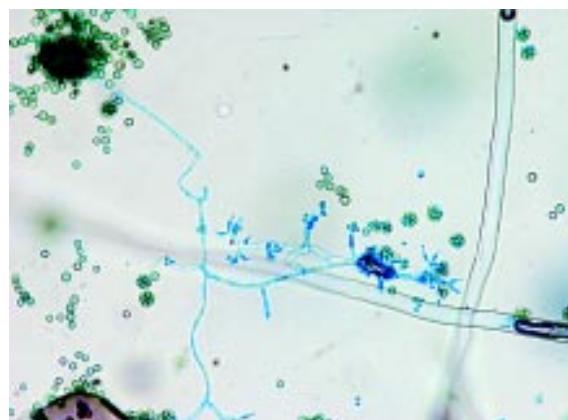


Figura: 10. *T. viride*. Vs. *A. repens*. (40x).

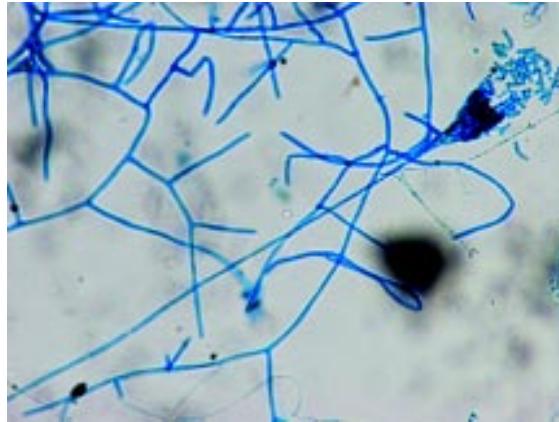


Figura: 11. *T. harzianum*. Vs. *P. parvum*. (40x).

El crecimiento de *Penicillium parvum*, no se vio limitado por las dos cepas de *Trichoderma*. En el caso de *Trichoderma*. Interactuando con *Bacillus sp* y

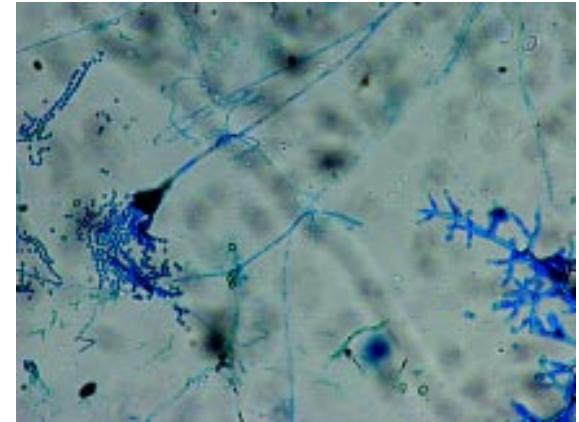


Figura: 12. *T. viride*. Vs. *P. parvum*. (40x).

Pseudomonas sp. *Trichoderma* inhibió o delimitó el crecimiento de las Bacterias. (Figura: 13, 14, 15 y 16).

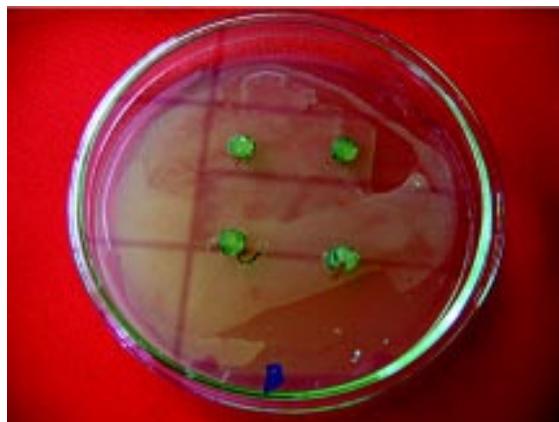


Figura: 13. *Bacillus sp*. Vs. *T. viride*.
A las 24 horas de incubación.



Figura: 14. *Bacillus sp*. Vs. *T. viride*.
A los 10 días de incubación.

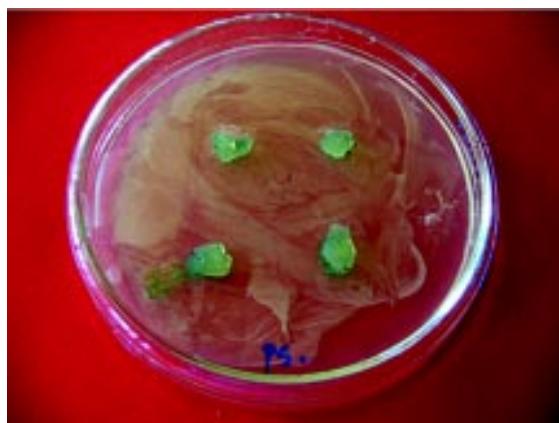
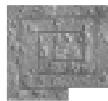


Figura: 15. *Pseudomonas sp*. Vs. *T. harzianum*.
A las 24 horas de incubación.



Figura: 16. *Pseudomonas sp*. Vs. *T. harzianum*.
A las 72 horas de incubación.



CONCLUSIONES

Las cepas de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, evaluadas, presentaron gran capacidad antagonica por su alta velocidad de crecimiento, demostraron ser unos organismos altamente agresivos en cuanto a la competencia por espacio inhibieron el crecimiento de los hongos, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinus* y *Rhizopus cohnii*; y las bacterias, *Pseudomonas sp* y *Bacillus sp*.

El hongo, *Penicillium parvum*, no se vio afectado en la competencia por espacio con *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, pues estos crecen

por encima del micelio de *Penicillium parvum*, sin inhibirle su crecimiento.

Trichoderma harzianum y *Trichoderma viride*, son altamente competitivos por el espacio, por esta razón, inhiben el crecimiento de otros microorganismos y pueden afectar las poblaciones de organismos en el suelo.

En altas aplicaciones de *Trichoderma* a los lotes cultivados pueden disminuir las poblaciones de hongos no patógenos descomponedores de la materia orgánica, alterando el equilibrio biológico de los suelos y por consiguiente se disminuye la fertilidad de estos.

RECOMENDACIONES

Evitar altas aplicaciones de *Trichoderma* en las prácticas agrícolas, especialmente de especies desconocidas sin evaluar su efecto.

Aplicar las dosis adecuadas de *Trichoderma*, por unidad de área, a los lotes cultivados.

Hacer análisis microbiológico de los suelos y de acuerdo a la microflora presente, tomar las decisiones correctas, para cualquier aplicación de un producto, sea biológico o químico para evitar el desequilibrio microbiológico del suelo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. 1995. Plant pathology. New York and London, Academic Press. 838p.

AHMA, J. S. and R. BAKER. 1987. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*. 77: 182-189 p.

ALEXANDER, M. 1.980 Introduction to soil microbiology. 423 p.

BAKER, R. 1985. Biological control of plant pathogens: definitions. P. 25-39. In M. A. Hoy and D. C. Herzog (Eds). Biological control in agricultural IPM systems. Academic Press. New York.

BAKER, R. 1988. *Trichoderma* sp. As plant growth stimulant. CRC Critical Reviews 7: 97-106 p.

BELL. D.K. WELL, H. D. and MARKHAM, C. R. 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382 p.

CHET, and INBAR, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Applied biochemistry and biotechnology* 48: 37-43 p.

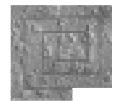
CHANG. Y. C., BAKER, KLEFIELD and I. CHET. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant disease* 70: 145-148 p.

BURBANO. H. 1,989. El suelo: Una visión sobre sus componentes bioorgánicos. 423 p.

ELAD, Y. 1980. *Trichoderma harzianum*: a biocrontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 70: 119-121 p.

ROMERO, G.; ARISTIZÁBAL, D.; JARAMILLO, C. 1998. Encuentro Nacional de Labranza de Conservación. Memorias. Villavicencio Meta. 1998. 574p.

ESPOSITO. E. AND DA-SILVA M. 1998. Systematise and environmental application of the genus *Trichoderma*. Critical review in microbiology. 24: 89-98.



SUÁREZ, F. C. 1982. Conservación de Suelos. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José. Costa Rica. 315p.

GRAHAM, P. H. and HARRIS, S. C. 1982. Biological nitrogen fixation. 499p.

HARMAN, G. E. 2001. *Trichoderma* spp. Including *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, moniliales (Asexual classification system)
<http://www.birdhybrids.com/t-22.htm>.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 1984. Análisis de suelos, plantas y aguas para riego. 253 p.

GILMAN, J. C. 1963. Manual de los Hongos del Suelo. Compañía editorial CONTINENTAL S.A. México. Primera edición en español. 572p.

KLEIFIELD O. C., I. 1992. *Trichoderma harzianum* Interaction with plants and effect on growth response. Plant and soil. 144: 267-272.

MEJÍA, L. C. 1985. Horizontes y Características Diagnósticas de la Taxonomía de suelos del USDA. Bogotá. 246p.

SILVA H. MARÍA DEL ROSARIO. 1995. Guías de laboratorio Microbiología Vegetal: Aislamiento de Microorganismos del Suelo. Universidad de los Llanos. 2004.

SCHASD, N. "W. 1998. Plant Pathology Bacteria. 2nd. Edition. Año . P 2-14. 158 p.

TRONSMO, AND A. GORDON, L. 1998. Biological control with *Trichoderma*. pp.111-126.

PRIMAVESSI, A. 1982. Manejo ecológico del suelo. 499 p.

WINDHAM, M. T.; ELAD AND BAKER R. A. 1986. Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathology 76, 518-521.