

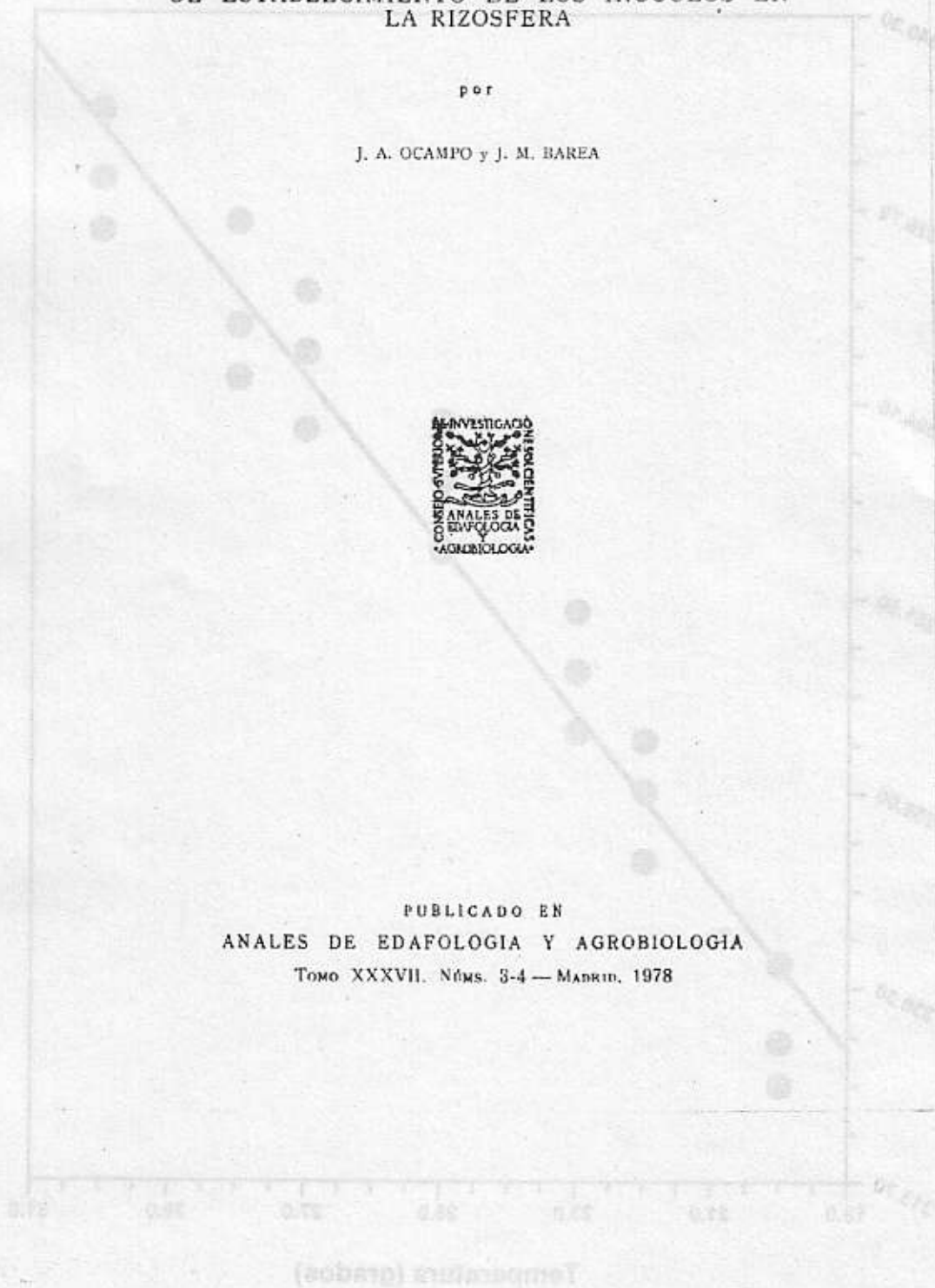
EFFECTOS DE LOS FERTILIZANTES MICROBIANOS  
SOBRE LA FLORACION DE TOMATE EN AUSENCIA  
DE ESTABLECIMIENTO DE LOS INOCULOS EN  
LA RIZOSFERA

por

J. A. OCAMPO y J. M. BAREA



PUBLICADO EN  
ANALES DE EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA  
TOMO XXXVII. NÚMS. 3-4 — MADRID, 1978



# EFFECTOS DE LOS FERTILIZANTES MICROBIANOS SOBRE LA FLORACION DE TOMATE EN AUSENCIA DE ESTABLECIMIENTO DE LOS INOCULOS EN LA RIZOSFERA

197

J. A. OCAMPO y J. M. BAREA

## SUMMARY

### EFFECTS OF BACTERIAL FERTILIZERS ON TOMATO FLOWERING IN ABSENCE OF BACTERIAL ESTABLISHMENT IN THE RHIZOSPHERE

In a combined application of microbial (*Azotobacter* and phosphobacteria) and mineral (NPK) fertilizers, in unsterile field soil, the introduced bacteria failed to be established, at an optimal level, in tomato rhizosphere. Although positive effects of bacterial fertilizers on flowering were showed.

The similarity in the effects produced by the different types of bacterial fertilizers suggest a common mode of action, being not antagonised by NPK addition. Since the effects resemble those produced by treatment with plant hormones, this mechanism could be based on the presence of such substances in the bacterial inocula, property shared *in vitro* by the *Azotobacter* and phosphobacteria tested.

## INTRODUCCIÓN

En experiencias anteriores realizadas en este laboratorio (Ocampo et al., 1975; Ocampo y Barea, 1975 y Ocampo et al., 1976) se estudió la forma de conseguir un establecimiento de bacterias utilizadas como inóculos, lo más prolongado posible, en la rizosfera de suelo de cultivo. Circunstancia también investigada en cultivos de arena-materia orgánica (Azcón et al., 1974).

Todos los experimentos anteriores (Ocampo et al., 1975; Ocampo y Barea, 1975 y Ocampo et al., 1976) se llevaron a cabo utilizando *Lavandula spica* var. *vera* L. Como las plantas son un factor importante entre los determinantes del desarrollo de *Azotobacter* en el suelo (Krasil'Nikov, 1961); y a que el tipo de planta puede decidir que sus raíces resulten un habitat favorable o antagónico para *Azotobacter* (Katznelson y Strzelczyk, 1961), era necesario comprobar si el establecimiento de las bacterias inoculadas variaba significativamente, al utilizar otro cultivo.

Al mismo tiempo, al haberse descrito que entre los mecanismos de acción de los abonos microbianos, uno de los más decisivos parece ser

la producción de fitohormonas por esos microorganismos (Brown, 1974), se intenta comprobar estas circunstancias en el presente trabajo.

Se utilizó tomate como planta extractora debido a que se conocen sus parámetros de crecimiento en relación con su sensibilidad a los efectos de las hormonas comerciales o producidas por las bacterias inoculadas (Azcón et al., 1975 y Marfil et al., 1975).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Microorganismos

Se utilizaron tres bacterias solubilizadoras de fosfatos: *Pseudomonas sp.*, *Agrobacterium sp.* y *Bacillus sp.* Estas estirpes fueron seleccionadas por Azcón et al. (1973), entre 50 fosfobacterias. Poseían, en cultivo puro, la capacidad de solubilizar fosfatos orgánicos y fosfato de roca, también eran productoras de hormonas vegetales de acuerdo con Barea et al. (1976). De otro lado, cumplían los requisitos de persistencia en su capacidad para solubilizar fosfatos y de producir beneficio inmediato al vegetal, condiciones exigidas a las fosfobacterias para ser seleccionadas (Ramos-Cormenzana, 1970). Para la preparación de inóculos, las bacterias se cultivaron en medio líquido de Brown (1972), manteniéndolas en agitación durante diez días a 28° C. En el momento de la inoculación se hizo un recuento en placa de Petri con medio de Ramos y Callao (1967). Cada cultivo contenía 10<sup>8</sup> fosfobacterias/ml., aproximadamente. El inóculo utilizado fue una mezcla a partes iguales de los tres cultivos de fosfobacterias.

Se emplearon tres *Azotobacter*: A<sub>1</sub> (*A. chroococcum*), cedido por el Dr. Brown (Rothamsted, Experimental Station, Inglaterra), capaz de producir auxinas y giberelinas (Brown y Burlinghan, 1968), A<sub>2</sub> (*A. vinelandii*) y A<sub>3</sub> (*A. beijerinckii*), aislados en este departamento. Estas dos son también productoras de auxinas, giberelinas y citoquininas (Azcón y Barea, 1975). Cada *Azotobacter* se cultivó en agitación durante catorce días a 28° C. En el momento de la inoculación se hizo un recuento en placa de Petri con medio sólido de Brown et al. (1962 a). Cada cultivo de *Azotobacter* contenía unas 10<sup>8</sup> células/ml., aproximadamente. El inóculo utilizado fue una mezcla a partes iguales de los tres cultivos de *Azotobacter*.

### Suelo

Se utilizó un suelo, proveniente de la provincia de Granada, de tipo pardo calizo (A, B y C), con pH = 7,6 y que contenía 30 mg/Kg. de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 132 mg/Kg. de N y 45 mg/Kg. de K<sub>2</sub>O. Tenía: 9,70 por 100 de arena gruesa, 22,80 por 100 de arena fina, 19,25 por 100 de limo y 48,22 por 100 de arcilla. Asimismo contenía 1,1 por 100 de materia orgánica.

### Plantas

Se utilizaron plantas de tomate. Las semillas se hicieron germinar en arena húmeda y una vez emergidas las plántulas se regaron con agua desionizada, realizándose el trasplante a las cuatro semanas de la germinación. En el momento del trasplante, a las raíces se les aplicó 0,1 ml. del correspondiente inóculo. Por tanto, cada plántula recibió, aproximadamente,  $10^6$  fosfobacterias y/o  $10^7$  *Azotobacter*.

### Tratamientos

Al suelo se le añadió un 2 por 100 (P/P) de estiércol de granja. Sobre éste se aplicaron los siguientes tratamientos:

#### Fertilizantes microbianos

- C = Control (cultivo de bacterias muertas al autoclave) (5 repeticiones).
- P = Inóculo de bacterias solubilizadoras de fosfatos (5 repeticiones).
- A = Inóculo de *Azotobacter* (5 repeticiones).
- A + P = *Azotobacter* más fosfobacterias (5 repeticiones).

Fertilizantes químicos.—Se utilizó un fertilizante soluble que contenía:

- 8,774 g de  $PO_4H_2K/l$ .
- 25,71 g de  $(NO_3)_2Ca/l$ .
- 12,00 g de  $(NO_3)NH_4/l$ .

Se aplicó una dosis de 10 ml/Kg de suelo en las épocas que se citan a continuación.

1. No se aplicó solución nutritiva en ningún momento del ensayo.
2. Se aplicó una dosis al colocar la plántula, o sea simultáneamente a los tratamientos microbianos.
3. No se aplicó dosis al trasplantar, pero se abonó, a las diez semanas del trasplante.
4. Se aplicó una dosis al trasplantar y otra a las diez semanas del trasplante.

Los tratamientos químicos y biológicos se combinaron de tal manera que cualquier tratamiento microbiano sufría todos y cada uno de los tratamientos químicos y viceversa.

Las plantas se cultivaron durante dieciséis semanas en invernadero a 19-25° C, recibiendo agua mediante un sistema de subirrigación. El agua ascendía automáticamente, por capilaridad, cuando era necesario. De esta forma no se afectan las propiedades físicas del suelo.

Se utilizaron 80 macetas de 2 Kg de capacidad (16 tratamientos por 5 repeticiones). Los 16 tratamientos resultan de aplicar 4 tratamientos químicos por 4 tratamientos microbianos.

#### Determinaciones

Durante el experimento se realizaron cada quince días tomas de muestras de suelo rizosférico como describen Brown et al. (1962 b) y Barea y Brown (1974). Se tomaron aproximadamente 1,5 g de suelo rizosférico de cada una de las 80 macetas. El primer muestreo se realizó seis semanas después del trasplante con objeto de no dañar las raíces de las plántulas.

Para los recuentos de *Azotobacter* se utilizaron diluciones seriadas al 1/10 de cada tratamiento, y se sembraron en medio sólido carente de nitrógeno (Brown et al., 1962 a).

Para establecer una base de referencia en los recuentos el suelo rizosférico de las muestras tomadas se recuperó de las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ , secándolas a  $105^{\circ}\text{C}$  y pasándolas a continuación. El número de bacterias se refirió a un gramo de suelo rizosférico seco.

Las fosfobacterias se contaron en un medio de Ramos y Callao (1967) que contenía 0,02 por 100 de fosfato de roca. La solubilización se detectó por formación de halos alrededor de las colonias.

Al iniciarse la floración (coincidiendo aproximadamente con el recuento bacteriano núm. 2), cada dos días se contó: a) Número de botones florales (coeficiente 1). b) Número de botones mostrando color (coef. 2). c) Número de flores abiertas (coef. 3). d) Número de flores «muertas» (para dar fruto) (coef. 4). e) Número de frutos (coef. 5).

Para calcular el «grado» de floración se multiplica el número de elementos de cada estadio por su coeficiente, obteniéndose después la media por tratamiento y día de recuento. Así se logra el «grado» por día de recuento. Posteriormente, se construyen gráficas en las que se representan los «grados» de floración con respecto al tiempo, para cada uno de los tratamientos. Interrumpiéndose ésta cuando se efectuó el 5.º recuento bacteriano.

#### RESULTADOS

La tabla I muestra los resultados del recuento de *Azotobacter* en rizosfera de tomate inoculada, bien con esta bacteria sola (tratamiento A), o bien en combinación con bacterias solubilizadoras de fosfatos (tratamiento A + P). En todos los casos el número de *Azotobacter* disminuye de forma considerable, a lo largo del ensayo, pero siempre se obtuvo mayor número de *Azotobacter* en la rizosfera de las plantas en las que esa bacteria se había inoculado conjuntamente con bacterias solubilizadoras de fosfatos, que en las que se había inoculado *Azotobacter* solo. Los tratamientos químicos no tienen gran influencia sobre el número de *Azotobacter* excepto en el tratamiento 2, cuando se aplican al comienzo de la floración.

TABLE I  
Cifras de Azotobacter en rizosfera de tomate

Tratamiento aplicado		N.º de azotobacter ( $\times 10^4$ /g de suelo seco)				
Fertilizante		(Recuento número):				
químico	bacteriano	1	2	3	4	5
1	A	216	233	29	34	12
	A + P	256	1148	428	405	16 (*) 11 21 (*)
2	A	256	437	46	28	25
	A + P	350	505	463	420	96 (*) 49 147 (*)

Tratamientos químicos aplicados:

1. No se aplicó.
2. Inicialmente.

(\*) Al comienzo de la floración.

A = Macetas inoculadas con *Azotobacter*.

A + P = Macetas inoculadas con *Azotobacter* y fosfobacterias.

TABLE II  
Cifras de fosfobacterias en rizosfera de tomate

Tratamiento aplicado		N.º de fosfobacterias ( $\times 10^4$ /g de suelo seco (**))				
Fertilizante		(Recuento número):				
químico	bacteriano	1	2	3	4	5
1	P	205	122	90	62	8
	A + P	182	114	83	57	15 (*) 9 16 (*)
2	A	71	66	63	61	28
	A + P	238	105	86	68	38 (*) 32 47 (*)

(\*\*) Los recuentos incluyen las fosfobacterias inoculadas y las existentes de forma normal en el suelo.

Tratamientos químicos aplicados:

1. No se aplicó.
2. Inicialmente.

(\*) Al comienzo de la floración.

P = Macetas inoculadas con fosfobacterias.

A + P = Macetas inoculadas con *Azotobacter* y fosfobacterias.

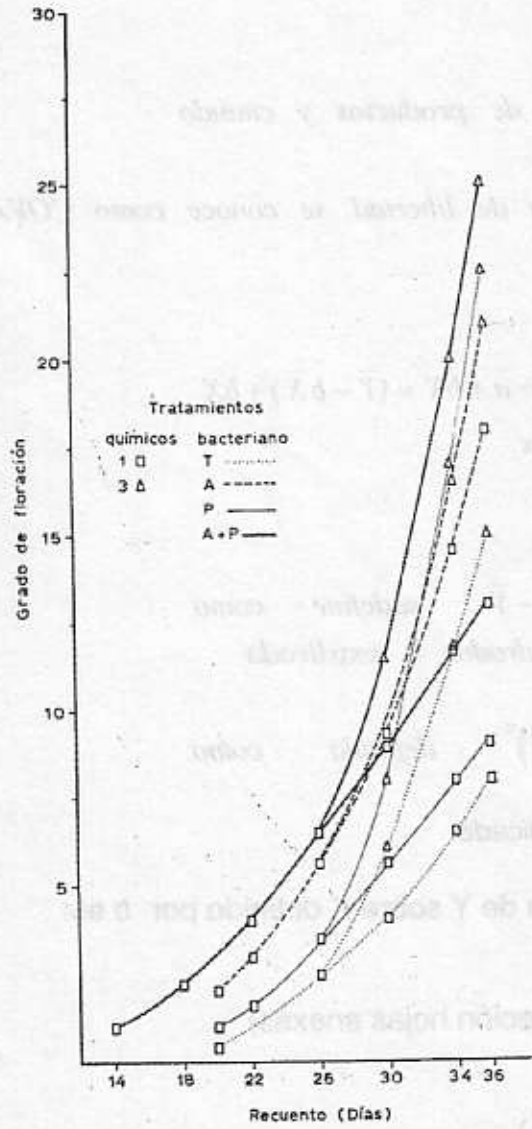


Fig. 1

CALCULO SMPLIFICADO CUANDO HAY UN SOLO VALOR DE Y PARA CADA X

1-Estimar

1.2 x 3.4 x 3.5 x 3.6

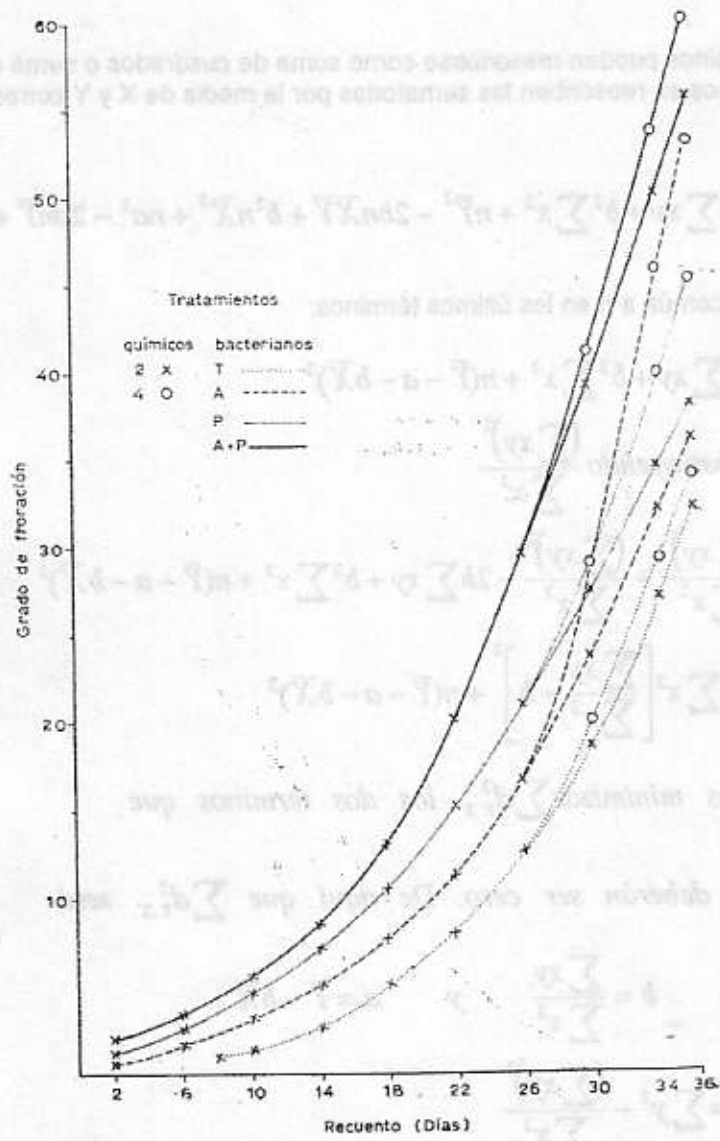


Fig. 2

En la tabla II se observan los resultados de los diferentes recuentos efectuados en muestras de rizosfera de tomate con diferentes tratamientos químicos y bacterianos. Las cifras de fosfobacterias fueron superiores cuando se aplicaban conjuntamente con *Azotobacter*, excepto en el tratamiento químico 1. Es de destacar que las cifras de fosfobacterias, cuando éstas se inoculaban individualmente, fueron superiores en el tratamiento 1 que en el 2.

A partir del recuento número 5 las cifras de *Azotobacter* (tabla I), como las de fosfobacterias (tabla II), descendieron hasta niveles subóptimos de forma tal que no se encontraron cifras apreciables de estos microorganismos.

Las gráficas 1 y 2 representan la evolución de los procesos de floración, expresada en forma de «grado de floración». Aunque este «grado de floración» se determinó cada dos días, sólo se representa en periodos de cuatro días con objeto de no complicar la figura. Este «grado de floración» se ha obtenido a partir de resultados acumulativos y de todo el tratamiento (no la media por macetas).

La gráfica 1 muestra que el tratamiento A + P es el que provoca una mayor precocidad de floración.

En la gráfica 2 se pone de manifiesto que el abono inorgánico induce una mayor precocidad de floración, pero ésta siempre es superior cuando se inoculan bacterias (*Azotobacter* o fosfobacterias), sobre todo cuando éstas se inoculan conjuntamente (tratamiento A + P).

#### DISCUSIÓN

En el caso de inoculación conjunta de *Azotobacter* con fosfobacterias (tabla I, tratamiento A + P) se consigue un mayor número de *Azotobacter* en la rizosfera de tomate que cuando se inocula individualmente (tratamiento A). Para buscar la causa de tal efecto hay que volver, de acuerdo con Ocampo et al. (1975 y 1976), a pensar que las fosfobacterias estimulan de algún modo el desarrollo de la población de *Azotobacter*.

En relación con el efecto del abono inorgánico aplicado al inocular, la cifra de *Azotobacter* (tabla I) es similar en tratamiento químico 2 que en 1, o sea, el abono inorgánico no favorece el desarrollo de *Azotobacter*. Este hecho puede explicarse, según Ocampo et al. (1976), por una estimulación de los microorganismos antagonistas frente a *Azotobacter* en la rizosfera de las plantas tratadas con NPK.

Por la misma causa (tabla II), el abono inorgánico no favorece, sino que perjudica el establecimiento de las fosfobacterias, pues hay menor número de bacterias solubilizadoras de fosfatos en tratamiento químico 2 que en 1. Sin embargo, la estimulación de fosfobacterias por *Azotobacter* (Ocampo et al., 1975 y 1976) es lo suficientemente elevada como para que haya una cifra considerable de fosfobacterias (tratamiento A + P), a pesar de la acción de los microorganismos amensalistas.

Como muestra la gráfica 1, hay una mayor precocidad de floración en los tratamientos inoculados conjuntamente con *Azotobacter* y fosfobacterias, esta acción se debe indudablemente a la acción de los *Azotobacter*, ya que en el recuento núm. 3 (tabla I) se observa una dife-

rencia considerable, en el número de *Azotobacter*, entre los tratamientos A y A + P, mientras que las cifras de fosfobacterias son similares en ambos tratamientos (tratamientos P y A + P, tabla II).

En las revisiones de Mishustin y Shil'Nikova (1971) y Brown (1974) concluyen que el efecto positivo de los *Azotobacter* en el crecimiento de las plantas no puede atribuirse a un enriquecimiento del medio con nitrógeno combinado. De forma similar, Tinker y Sanders (1975) opinan que las bacterias solubilizadoras de fosfatos, *in vitro*, no incrementan el nivel de fósforo en el suelo. Estas observaciones están en concordancia con los resultados observados en la gráfica 2, en la que se muestra una mayor precocidad de floración en aquellos tratamientos en los que se habían inoculado bacterias (*Azotobacter* y/o fosfobacterias), a pesar de haber exceso de nitrógeno y fósforo asimilables. De lo que se deduce, y de acuerdo con la opinión de diversos autores, que la producción de fitohormonas es el principal mecanismo de acción que explica los efectos positivos, sobre el crecimiento de las plantas, encontrados por la aplicación de «fertilizantes» microbianos.

En las revisiones de Brown et al. (1968) y Brown (1974), la literatura científica recogida apoya dicha idea. El hecho de que los efectos sobre el crecimiento (gráficas 1 y 2) sean muy parecidos independientemente del tipo de bacteria inoculada, y que dicho efecto no sólo no es incompatible con los fertilizantes NPK, sino que incluso tal abonado inorgánico aplicado en dosis adecuadas exalta la acción, sugiere que los distintos tipos de «fertilizantes» microbianos actúan por un mecanismo común. La precocidad con que se muestran los efectos y los síntomas más sobresalientes hacen pensar en el mecanismo hormonal. En los trabajos de este laboratorio (Azcón et al., 1973; Barea et al., 1974 y Azcón et al., 1974) se ha puesto de manifiesto la importancia de este mecanismo de acción en el comportamiento de las bacterias inoculadas y su repercusión sobre el crecimiento de las plantas, mecanismo confirmado, indirectamente, mediante la aplicación de fitohormonas comerciales (Marfil et al., 1975).

No cabe duda que un aporte extra de sustancias reguladoras de crecimiento vegetal, cuando la planta se encuentra en un estadio crítico de su desarrollo, confiere al vegetal un estímulo importante. Consecuentemente, plantas más vigorosas, en función del aporte hormonal provocado por el inóculo bacteriano (gráficas 1 y 2), poseen una capacidad superior a los controles no inoculados para alcanzar un mayor desarrollo, debido a la propia inercia del proceso, a pesar de que las cifras de bacterias decaigan rápidamente.

En experiencias anteriores (Ocampo et al., 1975 y 1976), en las que solo se variaba el tipo de planta, se encontraron mejores niveles de establecimiento de inóculos bacterianos que en la presente, utilizando tomate. Esto induce a pensar, de acuerdo con varios autores (Clark, 1948; Ulyashova, 1965 y Brown, 1974) que las plantas de tomate poseen un efecto negativo muy marcado sobre el establecimiento de las bacterias inoculadas.

## RESUMEN

En un ensayo de fertilización biológica en el que se aplican *Azotobacter* y fosfobacteria combinadamente con NPK, en un suelo de cultivo natural (no esteril), no se consiguió el establecimiento de las bacterias introducidas en rizosfera de tomate. Sin embargo, los «fertilizantes» microbianos produjeron efectos positivos en la floración de dicha planta.

El hecho de que los distintos tratamientos bacterianos ensayados produjeran efectos similares sugiere un mecanismo de acción común, que no es antagonizado por la adición de NPK. Los efectos son muy parecidos a los que se consiguen inoculando fitohormonas en rizosfera de tomate, y teniendo en cuenta que las bacterias usadas demostraron producir tales sustancias *in vitro*, se puede sugerir que la actividad de los inóculos bacterianos en los procesos reproductivos de la planta esté basada en la presencia de tales compuestos fitoactivos en los cultivos de *Azotobacter* y fosfobacterias ensayados.

Estación Experimental del Zaidín, Granada.

## BIBLIOGRAFÍA

- AZCÓN, R. y BAREA, J. M. (1975). Synthesis of auxins, gibberellins and cytokinins by *A. beijerinckii* and *A. vinelandii* related to effects produced on tomato plants. *Plant Soil*, **43**, 609-619.
- AZCÓN, R., BAREA, J. M. y CALLAO, V. (1973). Selección de microorganismos movilizados de fósforo y fijadores de nitrógeno para utilizarlos como fertilizantes biológicos en cultivos enarenados. *Cuad. C. Biol.*, **21**, 23-30.
- AZCÓN, R., BAREA, J. M. y CALLAO, V. (1973). Inoculación conjunta de microorganismos movilizados de fósforo y *Rhizobium* en cultivos enarenados de judía. I. *Microbiol. Españ.*, **26**, 31-39.
- AZCÓN, R., BAREA, J. M. y CALLAO, V. (1973). Inoculación conjunta de microorganismos movilizados de fósforo y *Rhizobium* en cultivos enarenados de judía. II. *Microbiol. Esp.*, **26**, 135-147.
- AZCÓN, R., BAREA, J. M. y HAYMAN, D. S. (1975). Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria. *Soil Biol. and Biochemistry*, **8**, 135-138.
- AZCÓN, R., GÓMEZ, M. y BAREA, J. M. (1974). Efectos de la aplicación conjunta de fertilizantes químicos y microbianos (*Azotobacter* + fosfobacterias) en cultivos «enarenados» de tomate. *Anal. Edaf. y Agrobiol.*, **33**, 863-878.
- BAREA, J. M. y BROWN, M. E. (1974). Effects on plant growth produced by *Azotobacter paspali* related to synthesis of plant growth regulating substances. *J. Appl. Bact.*, **37**, 583-599.
- BAREA, J. M., NAVARRO, E. y MONTOYA, E. (1976). Plant growth regulators produced by phosphate-solubilizing bacteria. *J. Appl. Bact.*, **40**, 129-134.
- BAREA, J. M., NAVARRO, E., PALOMARES, A. y MONTOYA, E. (1974). A rapid microbiological assay method for auxins, gibberellic acid and kinetin using yeast. *J. Appl. Bact.*, **37**, 174.
- BROWN, M. E. (1972). Plant growth substances produced by microorganisms of soil rhizosphere. *J. Appl. Bact.*, **35**, 433-451.
- BROWN, M. E. (1974). Seed and roots bacterization. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **12**, 181-197.
- BROWN, M. E. y BURLINGHAM, S. K. (1968). Production of plant growth substances by *Azotobacter chroococcum*. *J. Gen. Microbiol.*, **53**, 135-144.
- BROWN, M. E., BURLINGHAM, S. K. y JACKSON, R. M. (1962 a). Studies on *Azotobacter* species in soil. *Plant Soil*, **3**, 309-310.
- BROWN, M. E., BURLINGHAM, S. K. y JACKSON, R. M. (1962 b). Studies on *Azotobacter* species in soil. II. Populations of *Azotobacter* in the rhizosphere and effect of artificial inoculation. *Plant Soil*, **17**, 329-332.
- BROWN, M. E., JACKSON, R. M. y BURLINGHAM, S. K. (1968). Effects produced on tomato plants, *Lycopersicon esculentum*, by seed or root treatment with gibberellic acid and indol-3 y P-acetic acid. *J. Exp. Bot.*, **19**, 544-552.

- CLARK, F. E. (1948). Azotobacter inoculation of crops. III. Recovery of Azotobacter from the rhizosphere. *Soil Sci.*, 65, 193-202.
- KATZNELSON, H. y SZCZELCZYK, E. (1961). Studies on the interaction of plants and free-living nitrogen fixing micro-organisms. *Can. J. Microbiol.*, 7, 437-446.
- KRASIL'NIKOV, N. A. (1961). Soil microorganisms and higher plants. Akad. Nauk. SSSR, Moscow (Traduc. por Israel Program. Sci. Tranl., Washington, D. C.).
- MARFIL, J. M., BAREA, J. M. y RECALDE, L. (1975). Efectos del tratamiento con fitohormonas, aplicadas en concentraciones a las que son producidas por las bacterias del suelo sobre cultivos «enarenados» de tomate. Memoria de Licenciatura. Universidad de Granada.
- MISHUSTIN, E. N. y SHIL'NIKOVA, V. K. (1971). Biological fixation of atmospheric nitrogen. Macmillan, London.
- OCAMPO, J. A., BAREA, J. M. y MONTOYA, E. (1975). Interactions between Azotobacter and «phosphobacteria» and their establishment in the rhizosphere as affected by soil fertility. *Can. J. Microbiol.*, 21, 1160-1165.
- OCAMPO, J. A. y BAREA, J. M. (1975). Influencia de *Bdellovibrio* en el establecimiento de Azotobacter inoculado en rizosfera de *Lavandula*. V Congreso Nacional de Microbiología. Salamanca.
- OCAMPO, J. A., BAREA, J. M. y MONTOYA, E. (1976). Investigación de los factores ecológicos que afectan el establecimiento en la rizosfera de microorganismos utilizados como fertilizantes biológicos: Azotobacter y fosfobacterias. Tesis doctoral. Universidad de Granada.
- RAMOS-CORMENZANA, A. (1970). Criterios de selección de fosfobacterias. *Ars. Pharm.*, XI, 449-454.
- RAMOS, A. y CALLAO, V. (1967). El empleo de la solubilización de fosfatos en placa como técnica diferencial bacteriana. *Microbiol. Españ.*, 20, 1-12.
- TINKER, P. B. y SANDERS, F. E. (1975). Rhizosphere microorganisms and plant nutrition. *Soil Sci.*, 119, 363-368.
- ULYASHOVA, R. M. (1965). The microflora of a gravel tomato culture. *Priroda* (3), 120-121.