

Influencia de la Rizosfera del Maíz en la Microflora¹

POR RAFAEL MARTINEZ VIERA²

SYNOPSIS. — A study is made of the differences between the microflora of the rhizosphere and that of the control plot, in three different soils of Cuba, sown with maize. A remarkable increase was noted in the number of bacteria in the rhizosphere as compared with those in the control plot. The highest incidence and diversity of bacterial and fungal genera were found in the most productive soil, whereas in the poorest soil the incidence and diversity were lower. In the rhizosphere, a decrease in the number of anaerobic bacteria was noted, as well as the absence of *Xanthomonas* and *Erwinia*, which is attributed to the inhibitory effect resulting from root excretions. There was a high occurrence of *Azotobacter* in the rhizosphere of the most productive soil; this differs from results obtained from continental soils, where *Azotobacter* vanishes from the rhizosphere. A number of fungal genera which are rare on continental soils, appeared in the soils under study. There was a high occurrence and diversity of *Penicillium* in all three soils.

INTRODUCCION

La parte del suelo cercana a las raíces y afectada directamente por su actividad se llama rizosfera. Esta es la zona del suelo más activa biológicamente. En ella se produce el contacto directo de la planta con el suelo, tienen lugar los procesos más importantes de la nutrición de las raíces y actúan todos los factores que ejercen su efecto inmediato sobre las raíces de las plantas. La acumulación extraordinariamente alta de microorganismos en la rizosfera plantea muchas preguntas acerca de cuál es la influencia que ejerce la microflora de la rizosfera sobre las plantas; dada la gran actividad fisiológica del enorme

¹ Recibido en Agosto de 1963.

² Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Cuba.

número de microorganismos no puede dudarse de que éstos ejercen una gran influencia sobre las plantas, aunque existen pocos datos a este respecto. Ante todo, es importante estudiar las relaciones regulares que afectan la colonización de la rizosfera por parte de los microorganismos, estudiar la actividad de éstos y encontrar el significado que tienen los grupos o especies de microorganismos predominantes para la nutrición y para la salud de las plantas.

Ni los vegetales superiores ni los microorganismos pueden desarrollarse en la naturaleza cuando falta alguna de las dos partes, y si lo hacen es mostrando graves y definidas anormalidades. El hecho de que las plantas se desarrollen en el suelo y que los microorganismos aumenten su actividad en la zona contigua a las raíces, sugiere que las raíces de las plantas y los microorganismos son interdependientes. Algunos de estos efectos mutuos son solamente indirectos, mientras que otros efectos no podrían llevarse a cabo sin una íntima asociación que llega hasta la penetración de la planta por el microbio.

Para realizar los estudios de la microflora de la rizosfera se acostumbra a estudiar, al mismo tiempo, un suelo de control colocado fuera de la influencia directa de las raíces, el cual se caracteriza por una distribución discontinua de los residuos vegetales y porque carece de una cantidad de compuestos orgánicos fácilmente utilizables, los cuales, en cambio, son suministrados a la rizosfera por las raíces. De acuerdo con esto, la microflora que se desarrolla en la región de las raíces difiere considerablemente de la microflora del suelo de control, tanto en lo que respecta a composición, como al número y la actividad de sus componentes.

Hiltner (1904) fue el primero en probar que las plantas influyen significativamente la presencia y las actividades de los microorganismos que habitan las zonas vecinas a las raíces. Durante más de 50 años de estudio de estas influencias (Stoklasa y Doerell, 1926; Starkey, 1939; Katznelson, Lochhead y Timonin, 1948; Clark, 1949; Krasilnikov, 1958) se han recogido abundantes datos que prueban las diferencias cualitativas y cuantitativas entre las microfloras de la rizosfera y de los suelos de control.

Los factores responsables de los cambios de la actividad microbiana en la proximidad de las raíces de las plantas son numerosos. Se registran efectos producidos por diversos factores: adición de materia orgánica de las raíces; liberación de CO_2 ; penetración de las raíces, que abren galerías en el suelo; absorción de nutrientes inorgánicos y de

grandes cantidades de agua; pero la influencia dominante la ejercen las sustancias orgánicas y minerales excretadas por el sistema de las raíces, las cuales permiten aumentar el desarrollo de los microorganismos, a los cuales ofrecen excelentes fuentes de energía y nutrición representadas por sustancias fácilmente aprovechables, como azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos y vitaminas. Waksman y Starkey (1931) han demostrado que las distintas plantas afectan a los microbios de diferentes maneras y que, además, los diversos microbios del suelo responden de una forma diferente al crecimiento de las plantas. Según estos autores, en un mismo suelo la abundancia de las bacterias que colonizan a distintas plantas varía, estando relacionada estrechamente esta abundancia con la actividad que pueden desarrollar los microbios.

Con respecto a las diferencias existentes entre la microflora de la rizosfera y la del suelo testigo, y teniendo en cuenta que ambas carecen de suficientes sustancias nutrientes aprovechables, Macura (1962) sugiere que la colonización de las raíces ocurre mediante la competencia entre las bacterias por apropiarse los alimentos que aquellas les ofrecen, estando acompañada esta competencia por fenómenos de antagonismo, lo cual trae por consecuencia un aumento de bacterias, en calidad y cantidad, en la zona de las raíces, aprovechando el alimento que éstas les proporcionan.

Clark (1949) estableció que existen diferencias cualitativas en la presencia de grupos microbianos con diferentes propiedades en la superficie de las raíces, en la zona de la rizosfera y en el suelo testigo; y estudios posteriores (Macura, 1958; Vágnerová, Macura y Catská, 1960; Vágnerová *et al.*, 1961) establecieron que en la superficie de las raíces predominan los tipos de rápido crecimiento y los que requieren aminoácidos para su desarrollo. Macura (1962) llega a la conclusión de que la flora microbiana de la rizosfera está más relacionada con la microflora del suelo testigo que con la colonizadora de la superficie de las raíces, en lo que respecta a composición.

Waksman y Starkey (1931) demuestran con varios experimentos la influencia de la actividad de las raíces sobre la microflora, y establecen que esta influencia se refleja con una selectividad considerable en la incidencia de varias especies de bacterias y hongos, de los cuales algunos géneros pueden considerarse como representantes característicos de la microflora de la rizosfera, ya que su presencia es mucho más frecuente en esta zona, disminuyendo con el aumento de la distancia a ella.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en el estudio de la microflora de la rizosfera y de los suelos testigos, en tres tipos distintos de suelos, sembrados con el mismo cultivo, localizados en el Barrio Carambola, Municipio de Candelaria, Provincia de Pinar del Río.

No se nos escapa que el presente estudio adolece de serias deficiencias. Así, por ejemplo, la rizosfera ha sido considerada en su conjunto, sin delimitaciones en zonas, lo que resta importancia a los resultados obtenidos. Asimismo, no se ha tomado en cuenta la dinámica de las variaciones que tienen lugar en la cantidad y composición de los microorganismos de la rizosfera en los distintos períodos de desarrollo de las plantas, por lo que los datos obtenidos, como resultado de una sola comprobación durante el período vegetativo, tienen un valor limitado. No obstante, se ha considerado útil la publicación del presente trabajo, teniendo en cuenta que es el primero y único en su género realizado en Cuba, y que puede servir de base a trabajos posteriores más amplios sobre este tema.

Finalmente, se desea reconocer la asistencia prestada por Ernesto Tabío Medina y Rafael Cepero Elejalde durante la realización de este estudio.

MATERIALES Y METODOS

CARACTERISTICAS DE LOS SUELOS USADOS

SUELO I (Loam Arcilloso Palmarito): Consiste en una capa de loam arcilloso pardo claro o pardo amarillento que descansa de 10 a 15 cm. sobre una arcilla amarilla. Tanto el suelo como el subsuelo son pegajosos cuando se humedecen y muy duros cuando secan. Los campos recién arados, vistos a distancia, muestran con frecuencia un tinte rojizo, que no se advierte vistos de cerca.

Es característica la presencia de carbonato de calcio libre en todo el suelo, desde arriba hasta abajo. En algunos sitios se encuentra alguna grava cuarzosa en la superficie y a través del perfil. El lecho de roca caliza alcanza habitualmente 15 cm. y en algunos sitios menos profundidad.

La rizosfera se estudió en suelos de este tipo cultivados con maíz. Como suelo testigo se usó una porción que llevaba cuatro años sin cul-

tivar. El suelo estudiado mostró un pH de 6.7 y 22 por ciento de humedad.

SUELO II (Arcilla Limosa Bacunagua): Es un suelo aluvial, relativamente reciente, que varía de una arcilla limosa parda a un loam arcilloso limoso que, a unos 20 cm. de profundidad, pasa a ser una arcilla limosa de color ocre o amarillo con tinte ligeramente rojizo. Este es uno de los tipos de suelo más productivos de Cuba, y ha habido campos de este suelo que han estado cultivados durante 30 años con caña de azúcar, sin abono, produciendo, a pesar de esto, 42.4 toneladas de caña por hectárea, aproximadamente.

Los campos recién arados muestran, cuando se les mira a distancia, un tinte rojizo. Si se ara el suelo estando seco rompe en terrones grandes, que se desmenuzan con la lluvia y constituyen una buena estructura. Durante la sequía, el suelo se agrieta en grandes bloques poligonales de 30 cm. transversalmente y de 25 cm. de espesor. Las áreas más bajas se inundan a veces, pero desaguan a tiempo para no interferir con la cosecha. Este suelo es rico en carbonato de calcio libre.

La rizosfera se estudió en suelos de este tipo cultivados con maíz. Como suelo testigo se usó una porción que llevaba entre cinco y diez años sin cultivar. El suelo estudiado mostró un pH de 7.4 y 30 por ciento de humedad.

SUELO III (Loam Arcilloso Palmarito, fase rocosa): Es muy semejante al Suelo I, pero se diferencia por la mayor abundancia de afloramiento de roca caliza y por fragmentos de la misma en la superficie, así como por poseer una topografía más irregular. Hay menos terreno arable de este suelo que del tipo I y las porciones cultivadas se utilizan mayormente para el uso doméstico.

La rizosfera se estudió en suelos de este tipo cultivados con maíz. Como suelo testigo se usó una porción que nunca había sido cultivada, al decir de los campesinos. El suelo estudiado mostró un pH de 7.0 y 16 por ciento de humedad.

TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de tierra se tomaron en los tres suelos descritos anteriormente, tanto en la rizosfera como en el suelo testigo, recogiendo seis porciones de cada suelo en la vecindad de las raíces del maíz y

mezclando íntimamente las seis porciones en un frasco de Erlenmeyer estéril, mediante violenta y prolongada agitación. Las muestras se recogieron con pequeñas palas estériles a profundidades variables, desde la superficie hasta unos 8 cm. El maíz tenía unos 45 días de sembrado, en una época en que caía poca lluvia, durante el mes de Junio.

MEDIOS DE CULTIVO

Se sembraron las muestras de tierra sobre placas de sílica-gel, según el método de Winogradsky (1949), empleando como sustancias orgánicas sobre el gel, peptona, urea, alcohol etílico, benzoato de sodio, asparagina y acetato de sodio, separadamente. También se hicieron cultivos sobre agar nutriente, agar extracto de suelo, solución para fermentación de celulosa, Saboreaud dextrosado, solución de *Hydrogenomonas* y sílica-gel preparado para el crecimiento de bacterias fermentadoras de celulosa. Estos medios se emplearon para cultivos de bacterias aerobias. Para bacterias anaerobias se empleó agar nutriente, agar extracto de suelo y placas de sílica-gel con peptona, alcohol etílico y acetato de sodio. La composición de la solución de *Hydrogenomonas* es la siguiente:

| | |
|----------------------------|---------|
| Agua | 100 cc. |
| Fosfato monopotásico | 0.05 g. |
| Cloruro de amonio | 0.10 g. |
| Sulfato de magnesio | 0.02 g. |
| Bicarbonato de sodio | 0.10 g. |
| Cloruro férrico | Trazas |

PROCEDIMIENTOS DE CULTIVO

Se sembraron las placas de sílica-gel con pequeñas cantidades de tierra, diseminadas directamente sobre ellas y con diluciones de 1 g. de tierra en 100 cc. de agua destilada estéril, agregando 1 cc. de esta dilución en cada placa y rotando para que se extendiera el líquido por toda la superficie del medio. El resto de los cultivos sólidos se sembraron con 1 cc. de la dilución de tierra en agua destilada estéril. Los medios líquidos se sembraron agregando 1 cc. de la dilución de tierra a cada tubo.

RECUESTO DE BACTERIAS.

Para hacer el recuento de las bacterias que existen en 1 g. de suelo se usó el procedimiento de Winogradsky (1949). De cada suelo se examinaron seis muestras y se sacó el promedio de los distintos recuentos.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

La Tabla 1 muestra el recuento de bacterias en el suelo testigo y en la rizosfera. Las Tablas 2 y 3 muestran la incidencia relativa de géneros bacterianos y de hongos, respectivamente, en el suelo testigo y en la rizosfera, para cada uno de los tres tipos de suelos estudiados. En los tres suelos se observa un aumento notable del número de bacterias y de hongos que colonizan la rizosfera en comparación con los del suelo testigo. En el Suelo II, que está considerado como el de mayor fertilidad, se encuentra una mayor cantidad de bacterias por gramo de tierra en comparación con los otros dos suelos, existiendo también una mayor cantidad de géneros bacterianos y de hongos en el Suelo II que en los Suelos I y III. Mientras en el Suelo I se encontraron 22 géneros bacterianos y 11 de hongos, y en el Suelo III había 17 géneros bacterianos y 10 de hongos, en el Suelo II se encontraron 23 géneros bacterianos y 16 de hongos. En el Suelo III, que es el menos productivo de todos, se encuentra el menor número de bacterias y la menor incidencia en géneros de bacterias y de hongos.

TABLA 1

RECUESTO DE BACTERIAS (EN MILLONES POR GRAMO DE TIERRA)

| | Tipo de Suelo | Suelo Testigo | Rizosfera |
|------|--|---------------|-----------|
| I. | Loam Arcilloso Palmarito | 1,806 | 2,602 |
| II. | Arcilla Limosa Bacunagua | 3,350 | 3,970 |
| III. | Loam Arcilloso Palmarito (fase rocosa) | 1,400 | 2,100 |

En ninguno de los suelos testigo se encuentran bacterias del género *Vibrio*, las cuales aparecen, aunque en muy pequeña cantidad, en la rizosfera de los Suelos I y II.

Se observa una notable disminución de las bacterias anaerobias

en la rizosfera, que se atribuye a la mayor aereación de los suelos producida por las raíces; lo cual está demostrado por el hecho de que el Suelo II, que es el más susceptible de aereación y el que contiene mayor cantidad de agua, es el que tiene menor incidencia de bacterias anaerobias; mientras que el Suelo III, el más seco y el menos aereado, por su composición, es el que tiene mayor incidencia de bacterias anaerobias.

TABLA 2

INCIDENCIA RELATIVA DE GENEROS BACTERIANOS EN EL SUELO TESTIGO Y EN LA RIZOSFERA

| Género | Suelo I | | Suelo II | | Suelo III | |
|------------------------|---------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| | Testigo | Rizosfera | Testigo | Rizosfera | Testigo | Rizosfera |
| <i>Achromobacter</i> | 5.3 | 6.2 | 4.0 | 3.7 | 11.6 | 7.3 |
| <i>Actinomyces</i> | 2.0 | 2.0 | 5.9 | 5.2 | 7.4 | 5.2 |
| <i>Arthrobacter</i> | 8.2 | 8.5 | 3.3 | 5.5 | — | — |
| <i>Azotobacter</i> | 8.9 | 0.8 | 9.2 | 6.3 | 7.8 | 1.2 |
| <i>Bacillus</i> | 8.1 | 1.2 | 7.4 | 3.2 | 16.5 | 14.4 |
| <i>Bacterium</i> | 0.0 | 2.1 | 0.0 | 2.5 | 5.7 | 8.5 |
| <i>Brevibacterium</i> | 2.3 | 5.6 | 4.2 | 5.7 | 3.4 | 5.3 |
| <i>Cellulomonas</i> | 1.4 | 3.2 | 4.6 | 3.4 | 5.7 | 3.4 |
| <i>Clostridium</i> | 4.7 | 1.8 | 5.2 | 1.0 | 10.4 | 6.8 |
| <i>Corynebacterium</i> | 2.5 | 5.0 | 2.4 | 3.2 | 4.6 | 3.9 |
| <i>Erwinia</i> | 2.0 | 0.7 | 1.3 | 0.0 | — | — |
| <i>Flavobacterium</i> | 7.5 | 11.2 | 6.0 | 7.7 | — | — |
| <i>Hydrogenomonas</i> | — | — | 0.0 | 1.2 | — | — |
| <i>Kurthia</i> | 0.9 | 1.4 | — | — | — | — |
| <i>Micrococcus</i> | 8.1 | 5.2 | 5.7 | 6.2 | 0.0 | 4.5 |
| <i>Mycobacterium</i> | 2.5 | 6.4 | 2.1 | 4.3 | — | — |
| <i>Mycococcus</i> | 10.1 | 7.3 | 6.6 | 5.3 | 3.4 | 4.7 |
| <i>Mycoplana</i> | 5.7 | 8.7 | 8.7 | 6.2 | 0.0 | 3.7 |
| <i>Nitrobacter</i> | 3.2 | 1.4 | 5.0 | 3.8 | 5.0 | 3.6 |
| <i>Nitrosomonas</i> | — | — | 2.8 | 2.3 | — | — |
| <i>Proactinomyces</i> | — | — | 3.5 | 6.4 | 0.0 | 4.4 |
| <i>Pseudomonas</i> | 12.3 | 18.3 | 10.3 | 15.2 | 14.7 | 19.8 |
| <i>Serratia</i> | 0.0 | 1.3 | — | — | 0.0 | 2.3 |
| <i>Vibrio</i> | 0.0 | 0.4 | 0.0 | 1.0 | — | — |
| <i>Xanthomonas</i> | 3.3 | 1.2 | 1.6 | 1.0 | 3.7 | 1.0 |

En los tres suelos testigo se encuentra una cantidad de especies bacterianas fitopatógenas (*Xanthomonas* y *Erwinia*), cuyo número disminuye notablemente en la rizosfera, hasta desaparecer en algún caso. Esto puede deberse a la influencia inhibitoria producida por las excreciones de las raíces, lo cual sugiere la posibilidad de usar los productos de determinadas excreciones para combatir algunas enfermedades de las plantas producidas por estas bacterias.

MARTINEZ VIERA: RIZOSFERA DEL MAIZ

Se observa una notable disminución de *Azotobacter* en las rizosferas de los Suelos I y III, mientras que en el Suelo II se mantiene una incidencia relativamente alta en la rizosfera en comparación con el suelo testigo; estos resultados, especialmente los obtenidos en el Suelo II, defieren considerablemente de los resultados obtenidos en suelos continentales, donde se ha observado una ausencia total de *Azotobacter* en la rizosfera. Esta ausencia se ha explicado como debida al efecto inhibitorio de las excreciones de las raíces sobre el desarrollo de estos microorganismos. Sin embargo, Vancura y Macura (1961) han demostrado que el *Azotobacter* crece bien en medios que contienen excreciones de raíces como única fuente de energía. Macura (1962) considera que la ausencia de *Azotobacter* se debe a que, por su lento desarrollo, no es capaz de entablar competencia con los demás integrantes de la microflora de las raíces, los cuales poseen una alta actividad fisiológica. En los suelos estudiados en el presente trabajo no se observa la desaparición del *Azotobacter*, aunque sí una disminución en su incidencia; pero la relativamente alta incidencia en el Suelo II, que se traduce en un mayor contenido de Nitrógeno en este suelo y en una mayor rapidez de crecimiento de los cultivos vegetales, puede explicar la mayor fertilidad del Suelo II. Deben estudiarse las causas por las que el *Azotobacter* se mantiene en la rizosfera de estos suelos con tan alta incidencia relativa.

TABLA 3

INCIDENCIA RELATIVA DE GENEROS DE HONGOS EN EL SUELO TESTIGO Y EN LA RIZOSFERA

| Género | Suelo I | | Suelo II | | Suelo III | |
|-----------------------|---------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| | Testigo | Rizosfera | Testigo | Rizosfera | Testigo | Rizosfera |
| <i>Alternaria</i> | 0.0 | 3.2 | 7.6 | 10.3 | 6.7 | 8.0 |
| <i>Aspergillus</i> | 25.3 | 24.2 | 15.7 | 6.5 | 22.0 | 22.5 |
| <i>Botryles</i> | — | — | 2.0 | 2.3 | — | — |
| <i>Chaetomium</i> | 3.3 | 4.3 | 4.2 | 3.8 | 12.0 | 6.2 |
| <i>Cephalosporium</i> | — | — | 3.8 | 3.6 | — | — |
| <i>Curvularia</i> | 2.8 | 0.0 | 4.5 | 6.8 | 4.5 | 5.6 |
| <i>Fusarium</i> | 4.3 | 7.5 | 8.5 | 6.0 | 3.7 | 4.0 |
| <i>Gliocadium</i> | — | — | 5.0 | 3.2 | — | — |
| <i>Neocosmospora</i> | 0.0 | 2.3 | 0.0 | 1.3 | — | — |
| <i>Penicillium</i> | 52.4 | 47.4 | 39.8 | 47.0 | 45.8 | 41.8 |
| <i>Phoma</i> | 5.2 | 4.5 | 5.2 | 0.0 | 3.2 | 5.2 |
| <i>Sclerotium</i> | 2.5 | 2.5 | 0.0 | 3.6 | — | — |
| <i>Spicaria</i> | — | — | 0.0 | 2.5 | 0.0 | 2.5 |
| <i>Thielvia</i> | — | — | 3.4 | 0.0 | 0.0 | 2.4 |
| <i>Trichoderma</i> | 2.8 | 2.1 | 0.0 | 1.8 | — | — |
| <i>Trichurus</i> | 1.0 | 1.0 | 0.0 | 1.0 | 1.8 | 1.8 |

Hay que destacar también la existencia de algunos géneros de hongos que no se encuentran frecuentemente en suelos continentales y que aquí aparecen en los tres suelos estudiados. Se observa una alta incidencia de *Penicillium*, representado por muchas especies, lo cual sugiere que los suelos de Cuba constituyen un importante campo de investigación en lo que se refiere a la búsqueda de nuevos antibióticos.

BIBLIOGRAFIA

- CLARK, F. E.
1949. Soil microorganisms and plant roots. *Adv. Agr.*, vol. 1, pp. 241-288.
- FRED, E. B.
1916. Soil bacteriology. Philadelphia, 160 pp.
- HILTNER, L.
1904. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf den Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arb. Dut. Landw. Ges.*, vol. 98, pp. 59-78.
- KATZNELSON, H., A. G. LOCHHEAD Y M. J. TIMONIN
1948. Soil microorganisms and the rhizosphere. *Botan. Rev.*, vol. 14, pp. 543-587.
- KRASILNIKOV, N. A.
1958. Soil microorganisms and higher plants. Moscú, Publishing House of the Academy of Sciences of the U.S.S.R., 256 pp.
- MACURA, J.
1958. Seed and soil bacteria in relation to the rhizosphere effect. *Fol. Biol.*, Praga, vol. 5, pp. 274-280.
1962. Interrelations between soil microorganisms and plants. *En, Advances in Biological Science*, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, pp. 63-78.
- STARKEY, R. L.
1939. Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. *Soil Sci.*, vol. 27, pp. 319-447.
- STORLASA, J. Y E. G. DOERELL
1926. *Handbuch der biophysikalischen und biochemischen Durchforschung des Bodens.* Berlin.
- VÁGNEROVÁ K., V. CATSKÁ Y J. MACURA
1961. Composition and properties of the rhizosphere microflora of wheat. *Trans. 7th. Internatl. Congr. Soil Sci.*
- VÁGNEROVÁ K., J. MACURA Y V. CATSKÁ
1960. Rhizosphere microflora of wheat. I-Composition and properties of bacterial flora during the first stage of wheat growth. *Fol. Microbiol.*, vol. 5, pp. 298-310.

MARTINEZ VIERA: RIZOSFERA DEL MAIZ

VANCURA V. Y J. MACURA

1961. Effect of root excretions on *Azotobacter*. Fol. Microbiol., vol. 6, pp. 250-259.

WAKSMAN, S. A. Y R. L. STARKEY

1931. The soil and the microbe. Nueva York, 260 pp.

WINOGRADSKY, S.

1949. Microbiologie du soil. Paris, 860 pp.

COMISION NACIONAL DE LA ACADEMIA DE CIENCIAS DE LA
REPUBLICA DE CUBA.