

B R A G A N T I A

Boletim Técnico do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo

Vol. 19

Campinas, junho de 1960

N.º 40

677-650

FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO DO AR PELAS BACTÉRIAS QUE VIVEM ASSOCIADAS ÀS RAÍZES DO FEIJÃO DE PORCO E DO FEIJÃO BAIANO (*)

HERMANO GARGANTINI e ANTÔNIO CARLOS PIMENTEL WUTKE (**), engenheiros-agrônomos, Seção de Fertilidade do Solo, Instituto Agrônomo

RESUMO

Foi objetivo deste trabalho a determinação da quantidade de nitrogênio do ar fixada pelas bactérias que vivem associadas às raízes das leguminosas feijão de porco (*Canavalia ensiformis* D. C.) e feijão baiano (*Vigna sinensis* (L.) Savi).

A experiência foi conduzida em vasos de Mitscherlich, utilizando-se terra-roxamisturada, proveniente da Estação Experimental Central do Instituto Agrônomo, Campinas, e retirada à profundidade de 0-20 cm.

Por ocasião do florescimento das plantas procedeu-se à colheita do material e documentou-se por fotografias o desenvolvimento e a nodulação das raízes em todos os tratamentos.

No final do ensaio determinou-se o teor de nitrogênio da terra dos vasos que não receberam adubação nitrogenada, para comparação com o teor inicial desse elemento no solo utilizado. Idêntica determinação foi feita com a parte aérea e as raízes das plantas, depois de secas em estufa a 60°C e pesadas.

Com base nos dados obtidos calculou-se que os máximos de fixação verificados com o feijão de porco e o feijão baiano correspondem, respectivamente, a 48,5 e 73,0 kg de nitrogênio por hectare. Tais resultados indicam que, deste ponto de vista, as duas leguminosas apresentam característica positiva para a sua indicação como adubos verdes.

1 — INTRODUÇÃO

O valor das plantas leguminosas no enriquecimento do solo já era conhecido em épocas remotas, embora a causa desse fenômeno fosse ignorada. Segundo Waksman (12), antigos escritores gregos e romanos como Virgílio, Varro e Columela, preconizaram e descreveram a sua utilização para aumentar o rendimento de culturas subseqüentes.

(*) Trabalho apresentado ao VII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, realizado em Piracicaba, São Paulo, de 20 a 30 de julho de 1959.

Recebido para publicação em 9 de dezembro de 1959.

(**) Ex-bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

Davy (12), em 1813, parece ter sido o primeiro a concluir por uma possível fixação do nitrogênio do ar pelas plantas leguminosas. Posteriormente, trabalhos de inúmeros outros pesquisadores, como Bous-singault, Wilfarth, Beijerinck e Prazmowski (12), comprovaram a ocorrência dessa fixação, elucidando como se processa através das relações de simbiose estabelecidas entre as plantas hospedeiras e as bactérias fixadoras.

Bastante variável é a quantidade de nitrogênio do ar que pode ser fixada simbioticamente. Nesse fenômeno vários fatores têm ponderável influência (6, 7, 9, 10, 11, 12), como a espécie de leguminosa, a espécie e a estirpe de bactéria infetante, a reação do solo etc. O conhecimento da intensidade dessa fixação por diferentes espécies de leguminosas, em condições ecológicas particulares assume, evidentemente, papel de relêvo nas considerações que devem orientar a prática da adubação verde. Na literatura estrangeira (6, 7, 9) são numerosos os dados quantitativos existentes sobre este assunto; a maioria desses dados, porém, foi obtida em condições de clima e de solo bastante diversas daquelas que ocorrem em regiões tropicais e sub-tropicais. No Instituto Agrônomo experimentos em vasos com este objetivo já foram realizados (3, 4, 5), utilizando leguminosas adaptadas às condições do Estado de São Paulo e de emprêgo bastante difundido como adubos verdes. Seguindo a mesma orientação geral desses experimentos procurou-se, no presente trabalho, determinar a capacidade de fixação simbiótica do nitrogênio do ar de duas outras leguminosas, também de cultivo já difundido entre nós, para esta mesma finalidade.

2 — MATERIAL E MÉTODO

O ensaio foi instalado em vasos de Mitscherlich, obedecendo ao delineamento de sete tratamentos com três repetições, para cada uma das duas leguminosas empregadas: feijão de porco (*Canavalia ensiformis* D. C.) e feijão baiano (*Vigna sinensis* (L.) Savi).

Cada vaso recebeu 6 kg de terra-roxa-misturada, proveniente da Estação Experimental Central do Instituto Agrônomo, no município de Campinas, e retirada à profundidade de 0-20 cm. A terra utilizada foi previamente seca ao ar e passada através de peneira de 2 mm de abertura de malha. Analisada, apresentou as seguintes características químicas (2) e físicas (8):

pH (*)	5,20
C	1,70 %
N	0,100 %
PO ₄ (**)	0,04 e.mg/100 g de solo sêco ao ar
K ⁺ trocável	0,13 e.mg/100 g de solo sêco ao ar
Ca ⁺⁺ trocável	0,24 e.mg/100 g de solo sêco ao ar
Mg ⁺⁺ trocável	0,15 e.mg/100 g de solo sêco ao ar
H ⁺ trocável	5,16 e.mg/100 g de solo sêco ao ar
Argila	50,00 %
Areia grossa	20,50 %
Limo + areia fina	29,50 %

Empregaram-se os seguintes tratamentos: 1) testemunha; 2) NPK; 3) NPK + calcário; 4) NPK + inoculante; 5) NPK + calcário + inoculante; 6) PK + calcário; 7) PK + calcário + inoculante.

Aos vasos que deveriam receber fertilizantes foram adicionados, em solução, de acôrdo com os diversos tratamentos, 2,0 g de N, 2,2 g de P₂O₅ e 3,0 g de K₂O, nas formas de NH₄NO₃, K₂HPO₄ e KCl.

A quantidade de calcário empregada nos tratamentos 3, 5, 6 e 7 foi calculada com base no pH e no H⁺ trocável do solo (2), para elevar aquêle índice ao valor de 6,5 e a saturação em bases do solo a 70%. Utilizou-se calcário do tipo dolomítico cristalino, com grau de finura dado por peneira 50 (0,3 mm de abertura de malha) e com as seguintes características químicas: CaO — 31,7%; MgO — 19,7%; equivalência de CaCO₃ — 105,8%.

Um mês antes de serem adicionados os fertilizantes, o calcário foi bem misturado com a terra, de modo a se estabelecer contato íntimo entre partículas. A seguir, adicionou-se água a todos os vasos que receberam êste tratamento, para mais prontamente elevar a reação do solo ao valor desejado.

A semeadura foi realizada em 23 de outubro de 1957, colocando-se 10 sementes por vaso. Nos tratamentos que deveriam receber inoculação utilizou-se inoculante (1) específico para o grupo do 'cow-pea' (*Rhizobium* sp.), para as sementes de ambas as leguminosas. Apenas variaram as proporções de inoculante empregadas, que foram de 250 g para 50 kg de sementes de feijão baiano e de 250 g para 100 kg de sementes de feijão de porco.

(*) Medido na relação solo-água de 1 : 2,5.

(**) Extraído com solução de H₂SO₄ 0,05 N.

(1) Material fornecido pelo engenheiro-agrônomo Cyro G. Teixeira, do Laboratório de Microbiologia dêste Instituto.

Durante a condução do ensaio manteve-se a terra com teor de umidade favorável ao desenvolvimento das plantas, fazendo voltar aos vasos o excesso de água, sempre que havia percolação.

Em 26 de outubro iniciou-se a germinação das sementes de ambas as leguminosas e em 7 de novembro foi efetuado o desbaste, conservando-se, por vaso, três plantas de feijão de porco e quatro de feijão baiano.

O início do florescimento do feijão de porco ocorreu em 23 de dezembro, enquanto que as primeiras flôres do feijão baiano somente foram observadas 15 dias depois, em 8 de janeiro de 1958. Por tal razão, as colheitas dos materiais fornecidos pelas duas leguminosas foram efetuadas nos dias 2 e 22 de janeiro, respectivamente, quando as plantas apresentavam aproximadamente 50% de flôres abertas.

Antes da colheita fêz-se a apreciação comparativa do desenvolvimento das plantas representativas de todos os tratamentos. Somente foi possível obter-se fotografia documentando êsse confronto com as plantas de feijão de porco (figura 1). Idêntica providência para o feijão baiano seria inútil, uma vez que o entrelaçamento intenso de seus ramos volúveis obrigou-nos a cortá-los para poder separar os vasos.

O corte das plantas foi executado rente ao solo, de modo a ficarem divididas em duas frações: raízes e parte aérea. Os conjuntos constituídos pelos emaranhados de raízes e terra foram retirados dos vasos, colhendo-se, nessa ocasião, amostras de terra daqueles vasos que não receberam adubação nitrogenada.

As raízes foram inicialmente separadas dos blocos de terra sob a ação de um jato de água. Posteriormente, foram cuidadosamente lavadas, secas ao ar e fotografadas (figuras 2 e 3), observando-se, ainda o seu desenvolvimento e nodulação.

Após pesagem da produção de massa verde da parte aérea de todas as plantas, esta fração e as raízes foram secas em estufa a 60° C e novamente pesadas, determinando-se, então, os seus teores de nitrogênio pelo processo de Kjeldahl. Idêntica determinação foi feita com as amostras de terra retiradas dos vasos no final do ensaio.



FIGURA 1. — Plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* D. C.) na data da colheita do material. 1 — Testemunha; 2 — NPK; 3 — NPK + calcário; 4 — NPK + inoculante; 5 — NPK + calcário + inoculante; 6 — PK + calcário; 7 — PK + calcário + inoculante.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

No quadro 1 são apresentadas as produções da parte aérea e das raízes das duas leguminosas secas a 60° C, bem como as suas porcentagens de nitrogênio. São também apresentados, nesse quadro, os teores de nitrogênio determinados no solo, no final do ensaio.

Do exame desses dados podemos observar, inicialmente, que as adubações parcial (PK) e total (NPK) tiveram decisiva influência nas produções das duas leguminosas. Isto se explica principalmente pela intensa concorrência em elementos nutritivos estabelecida entre as plantas, devida ao reduzido volume de terra explorado em cada vaso. Devem ser consideradas, também, como causa desta resposta positiva à adubação, as desfavoráveis características químicas do solo utilizado, exceções feitas ao carbono e nitrogênio, que figuram com valores médios.

Embora o delineamento utilizado não permita conclusão sobre o efeito isolado do calcário, a necessidade da sua aplicação, estabelecida "a priori", em razão das exigências das leguminosas em geral,

QUADRO 1. — Produções totais de material seco de três vasos. Percentagens de nitrogénio total na parte aérea, nas raízes e no solo, no final do ensaio

Tratamentos	FEIJÃO DE PORCO						FEIJÃO BAIANO					
	Hastes e folhas			Raiz			Hastes e folhas			Raiz		
	Mat. seco 60°C	N no mat. seco	%	Mat. seco 60°C	N no mat. seco	%	Mat. seco 60°C	N no mat. seco	%	Mat. seco 60°C	N no mat. seco	%
	g			g			g			g		
1 - Testemunha -----	39,5	1,646		14,0	1,689	0,10	7,0	2,445	4,0	1,925	0,11	
2 - NPK -----	141,5	2,986		46,0	1,596	n.d.	200,0	2,110	48,0	1,844	n.d.	
3 - NPK + calcário -----	190,5	2,323		35,5	1,625	n.d.	242,0	2,473	35,0	2,003	n.d.	
4 - NPK + inoculante -----	149,5	3,097		33,0	1,759	n.d.	202,5	2,278	40,0	1,876	n.d.	
5 - NPK + calc. + inoc. -----	201,5	2,343		32,5	1,580	n.d.	243,5	2,386	39,0	1,925	n.d.	
6 - PK + calcário -----	138,5	1,793		32,0	2,023	0,10	217,0	2,645	30,0	2,442	0,11	
7 - PK + calc. + inoc. -----	146,0	1,950		32,0	2,042	0,10	234,5	2,711	32,0	2,059	0,10	

com relação a cálcio, magnésio e reação do solo, foi plenamente confirmada. Como se depreende dos dados contidos nos quadros 1 e 2, a calagem influenciou notavelmente em favor de maiores produções e de maneira mais acentuada para o feijão de porco. A inoculação também agiu favoravelmente neste sentido, ainda que menos intensamente, o que se pode atribuir, em parte, à possível concorrência das bactérias já existentes no solo, no processo de infecção de raízes e formação de nódulos.

Ainda com relação à produção de massa da parte aérea, podemos verificar (quadros 1 e 2) que, para o feijão de porco, nos tratamentos em que foi empregada adubação completa (NPK) com a adição de calcário e, ainda, de inoculante, as produções foram bastante superiores àquelas dos tratamentos correspondentes, em que foi omitido o fertilizante nitrogenado. Pode-se inferir, pois, que não obstante tenha esta leguminosa fixado apreciável quantidade de nitrogênio nos tratamentos PK + calcário e PK + calcário + inoculante, a simbiose não foi capaz de suprir as plantas desse elemento com a mesma eficiência do fertilizante empregado. As mesmas considerações, feitas para o feijão baiano, mostram que, neste caso, o fenômeno de fixação simbiótica foi mais intenso. Podemos observar no quadro 2 que com o feijão de porco e em relação aos tratamentos 6 e 7, foram obtidos nos tratamentos 3 e 5 aumentos de 37,5%, com a adição do fertilizante nitrogenado. Já com o feijão baiano os aumentos observados foram, respectivamente, de 11,5% e 3,8%.

A porcentagem de nitrogênio da parte aérea do feijão de porco mostrou-se mais elevada nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada. Esta verificação constitui mais uma evidência de que a simbiose, neste caso, ainda que de apreciável resultado, não se desenvolveu de modo a poder substituir totalmente o nitrogênio adicionado na forma de fertilizante. Idêntica ocorrência não foi confirmada nas raízes, onde a variação do teor de nitrogênio mostrou-se diretamente relacionada com a nodulação. Esta apresentou-se visivelmente mais desenvolvida nos tratamentos sem nitrogênio (figura 2), o que já tem sido verificado em experiências similares. Thornton, entre outros, segundo citação de Russell (9), verificou que o processo de infecção e formação de nódulos pode ser perturbado se a concentração de nitrato ou amônia ao redor das raízes for bastante elevada. Análises efetuadas com a parte aérea e as raízes do feijão baiano revelaram, para ambas estas frações, teores mais elevados de

QUADRO 2. — Aumentos percentuais na produção total de massa seca a 60° C da parte aérea de três vasos. Diferenças obtidas pelo emprego de calagem, inoculação e adubação nitrogenada

Tratamentos comparados	FEIJÃO DE PORCO				FEIJÃO BAIANO			
	Produções	Diferenças	Aumentos	Fator variável	Produções	Diferenças	Aumentos	Fator variável
3 - NPK + calcário	g 190,0	g 48,5	% 34,20	Calagem	g 242,0	g 42,0	% 21,00	Calagem
2 - NPK	141,5				200,0			
5 - NPK + calc. + inoc.	201,5	52,0	34,70	Calagem	243,0	41,0	20,20	Calagem
4 - NPK + inoculante	149,5				202,5			
5 - NPK + calc. + inoc.	201,5	11,0	5,77	Inoculação	243,5	1,5	0,60	Inoculação
3 - NPK + calcário	190,5				242,0			
7 - PK + calc. + inoc.	146,0	7,5	5,41	Inoculação	234,5	17,5	8,06	Inoculação
6 - PK + calcário	138,5				217,0			
4 - NPK + inoculante	149,5	8,0	5,65	Inoculação	202,5	2,5	1,25	Inoculação
2 - NPK	141,5				200,0			
3 - NPK + calcário	190,5	52,0	37,50	Adub. Nitrog.	242,0	25,0	11,52	Adub. Nitrog.
6 - PK + calcário	138,5				217,0			
5 - NPK + calc. + inoc.	201,5	55,5	38,00	Adub. Nitrog.	243,5	9,0	3,83	Adub. Nitrog.
7 - PK + calc. + inoc.	146,0				234,5			

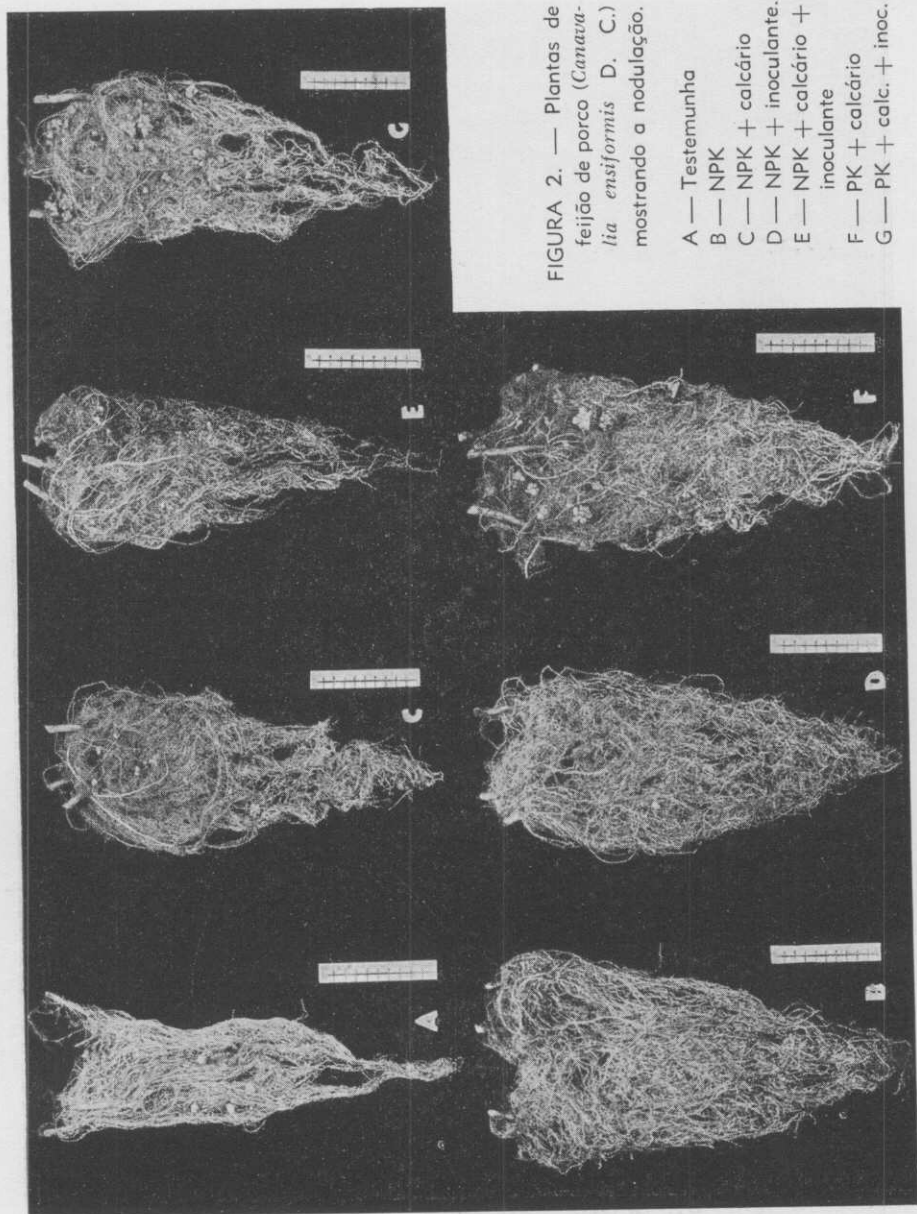


FIGURA 2. — Plantas de feijão de porco (*Camaria ensiformis* D. C.) mostrando a nodulação.

- A — Testemunha
- B — NPK
- C — NPK + calcário
- D — NPK + inoculante.
- E — NPK + calcário + inoculante
- F — PK + calcário
- G — PK + calc. + inoc.

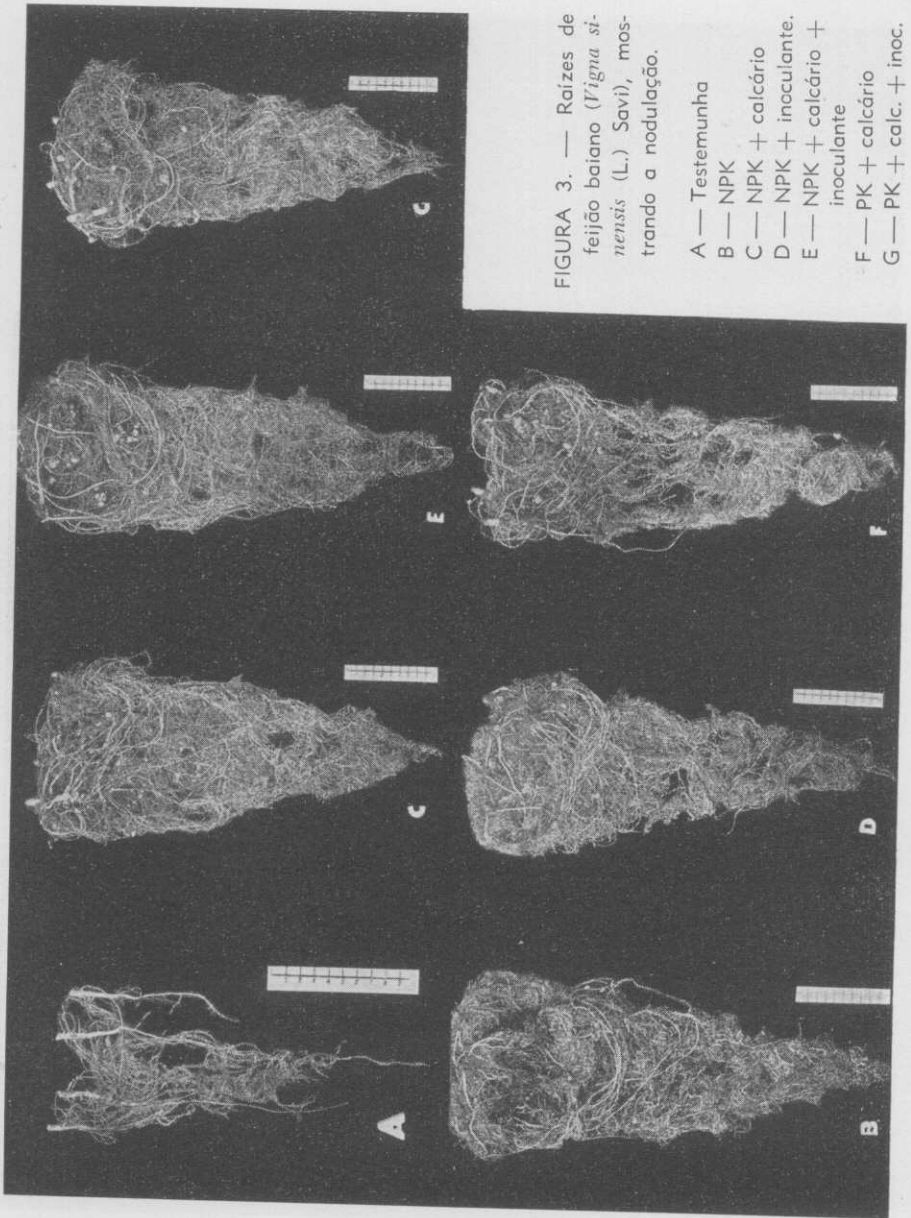


FIGURA 3. — Raízes de feijão baiano (*Vigna stenospéris* (L.) Savi), mostrando a nodulação.

- A — Testemunha
 B — NPK
 C — NPK + calcário
 D — NPK + inoculante.
 E — NPK + calcário + inoculante
 F — PK + calcário
 G — PK + calc. + inoc.

nitrogênio nos tratamentos em que êsse elemento foi omitido e nos quais a nodulação também foi mais intensa (figura 3). Êstes dados vêm corroborar a apreciação anteriormente feita sôbre a capacidade de fixação do feijão baiano, baseada na produção de massa de sua parte aérea.

A quantidade de nitrogênio do solo nos tratamentos 6 (PK + calcário) e 7 (PK + calcário + inoculante) para as duas leguminosas revelou-se, no final do ensaio, igual ou ligeiramente superior àquela que foi determinada antes de ser instalado o experimento. Pode-se concluir, pois, que todo o nitrogênio encontrado nas plantas nestes dois tratamentos foi fixado simbioticamente.

Com base nos dados obtidos determinaram-se as quantidades médias de nitrogênio fixadas por vaso e por planta, nos tratamentos 1, 6 e 7, que são apresentadas no quadro 3. Deixou de ser considerado o nitrogênio que poderia ter sido excretado para o solo pelas plantas, devido à impossibilidade de sua determinação nas condições do experimento.

Os dados relativos à produção de massa verde por hectare e a quantidade de nitrogênio fixada por esta mesma unidade de área, consignados também no quadro 3, foram calculados considerando os respectivos valores médios determinados por planta, multiplicados pelo fator 125 000. Êste fator corresponde ao número teórico de plantas existentes na área de um hectare, quando empregado o espaçamento recomendado (1) para a cultura destas duas leguminosas como adubos verdes.

4 — CONCLUSÕES

As principais conclusões que podem ser tiradas dos dados obtidos são as seguintes:

a) o fertilizante nitrogenado teve influência favorável na produção e na porcentagem de nitrogênio da parte aérea do feijão de porco. Embora esta leguminosa tenha fixado apreciável quantidade de nitrogênio do ar, o fenômeno simbiótico não foi suficiente para substituir totalmente o efeito do fertilizante;

b) nas condições do experimento o feijão baiano evidenciou notável eficiência na fixação do nitrogênio do ar; o efeito da adubação nitrogenada, adicionada ao tratamento PK + calcário + inoculante, foi

QUADRO 3. — Produções médias de massa verde da parte aérea e quantidades médias de nitrogênio do ar fixado, determinadas por vaso e por planta. Produções de massa verde da parte aérea e quantidades de nitrogênio do ar fixado, calculadas por hectare (*)

FEIJÃO DE PORCO

Tratamentos	Massa verde produzida		Prod. massa verde Calculada	Fixação de N determinada		Fixação de N Calculada
	Prod./vaso	Prod./planta		Fix./vaso	Fix./planta	
1 - Testemunha	g 70,5	g 23,5	t/ha 2,937	g 0,295	g 0,098	t/ha 12,28
6 - PK + calcário	238,6	79,5	9,937	1,043	0,347	43,37
7 - PK + calc. + inoc.	252,3	84,1	10,513	1,166	0,388	48,50

FEIJÃO BAIANO

Tratamentos	Massa verde produzida		Prod. massa verde Calculada	Fixação de N determinada		Fixação de N Calculada
	Prod./vaso	Prod./planta		Fix./vaso	Fix./planta	
1 - Testemunha	g 19,3	g 4,82	t/ha 0,602	g 0,082	g 0,0205	t/ha 2,56
6 - PK + calcário	567,0	141,75	17,718	2,157	0,539	67,37
7 - PK + calc. + inoc.	602,5	150,62	18,827	2,338	0,584	73,00

(*) Fixação de nitrogênio determinada e calculada sobre material seco a 60° C. Produções de massa verde determinadas por vaso e por planta e calculadas por hectare.

insignificante, praticamente nulo sobre a produção e depressivo com relação ao teor de nitrogênio, tanto da parte aérea como das raízes;

c) ao término da experiência a terra dos vasos correspondentes aos tratamentos testemunha, PK + calcário e PK + calcário + inoculante, para as duas leguminosas apresentou teor de nitrogênio igual ou ligeiramente superior ao que foi determinado no início do ensaio; isto permite concluir que todo o nitrogênio encontrado nas plantas foi fixado simbioticamente naqueles tratamentos;

d) no tratamento PK + calcário o feijão de porco e o feijão baiano fixaram em média 0,347 g e 0,539 g de nitrogênio por planta, respectivamente; a estes dados correspondem, teoricamente, 43,37 kg e 67,3 kg de nitrogênio fixados por hectare, para produções também calculados de 9,943 e 17,718 t de massa verde por hectare;

e) no tratamento PK + calcário + inoculante os valores médios encontrados, de fixação por planta, foram de 0,388 g para o feijão de porco e de 0,584 g para o feijão baiano; as quantidades de nitrogênio fixadas por hectare, e calculadas com base nestes dados, foram de 48,5 kg e de 73,0 kg respectivamente, correspondendo às produções de 10,513 t e 18,827 t de massa verde, também por hectare.

NITROGEN FIXATION BY BACTERIA IN ASSOCIATION WITH SWORD BEAN AND COWPEA

SUMMARY

The determination of the nitrogen fixed from the air by bacteria in association with sword bean (*Canavalia ensiformis* D. C.) and cowpea (feijão baiano) (*Vigna sinensis* (L.) Savi) was the main purpose of this work.

The two leguminous plants were sown in Mitscherlich pots filled with 6 kg of "terra-roxa-misturada" soil, collected at the depth of 20 cm in the Central Experiment Station, Instituto Agrônomo, Campinas County.

The following treatments with three replications were compared: 1) check; 2) NPK; 3) NPK + limestone; 4) NPK + inoculant; 5) NPK + limestone + inoculant; 6) PK + limestone; 7) PK + limestone + inoculant.

The amount of limestone was calculated to raise the pH to 6.5 and the base saturation of the soil to 70%.

The fertilizer applications for N, P₂O₅ and K₂O were 2.0 g, 2.2 g and 3.0 g respectively, as solutions of NH₄NO₃, K₂HPO₄ and KCl.

Harvesting was done at the beginning of blooming-time by cutting the plants even with the ground. Later, both the aerial parts, as well as the roots, were weighed fresh and after drying at 60° C.

Nitrogen determination by the Kjeldahl method of these two fractions, aerial parts and roots, were made after drying. The soil from those pots without nitrogen

fertilizer were submitted to the same analysis for comparison with the initial level of this element in the soil.

The data obtained indicate that the two leguminous plants showed a good nitrogen fixation capacity and that the feijão baiano was more effective. The amounts of nitrogen fixed in pots that received the best treatments corresponded to 48.5 kg per hectare for the sword bean and 73.0 kg for the "feijão baiano". From this point of view both leguminous plants were satisfactory to be employed as green manure.

LITERATURA CITADA

1. CAMARGO, A. PAIS DE. Instruções sumárias sôbre as culturas econômicas do Estado de São Paulo. Campinas, Instituto agrônômico, 1953. 31 p. (Boletim N.º 45)
2. CATANI, R. A., GALLO, J. ROMANO & GARGANTINI, H. Amostragem de solo, métodos de análise, interpretação e indicações gerais para fins de fertilidade. Campinas, Instituto agrônômico, 1955. 28 p. (Boletim N.º 69)
3. ———, GARGANTINI, H. & GALLO, J. ROMANO. A fixação do nitrogênio do ar pelas bactérias que vivem associados com as leguminosas crotalária e mucuna. *Bragantia* 14:[1]-8. 1954.
4. GARGANTINI, H. Fixação do nitrogênio do ar pelas bactérias que vivem associadas às raízes do guandu. [Não publicado]
5. ——— & CATANI, R. A. Fixação do nitrogênio do ar atmosférico pelas bactérias que vivem associadas às raízes da soja. *Bragantia* 17:[195]-204. 1958.
6. HARRIS, J. R. The significance of symbiotic nitrogen fixation. In White, R. O., Nilsson-Leissner, G. & Trumble, H. C. Legumes in agriculture. Rome, Food and Agriculture Organization of The United Nations, 1953. p. 175-189.
7. LYON, L. T., BUCKMAN, H. O. & BRADY, N. The nature and properties of soils. 5.ª edição. New York, The MacMillan Company, 1952. 591 p.
8. MEDINA, H. PENNA & GROHMANN, F. Contribuição ao estudo da análise granulométrica do solo. [A publicar]
9. RUSSELL, E. J. Soil conditions and plant growth. 8.ª edição. London, Longmans, Green & Co., 1950. p. 311-325.
10. SHIELDS, L. M. Nitrogen sources of seed plants and environmental influences affecting the nitrogen supply. *Bot. Rev.* 19:321-376. 1953.
11. THOMPSON, L. M. Soils and soil fertility. New York, McGraw-Hill Book Company, Inc., 1952. p. 140-149.
12. WAKSMAN, S. A. Soil microbiology. New York, John Wiley and Sons, 1952. p. 208-229.