

**BOLETIM
DO
INSTITUTO DE ECOLOGIA E
EXPERIMENTAÇÃO AGRÍCOLAS**

**Ocorrência e capacidade de fixação de nitrogênio
de bactérias do gênero Beijerinckia nas séries de
solos da área territorial do Centro Nacional de
Ensino e Pesquisas Agronômicas.**

JOHANNA DÖBEREINER

•

ABEILARD FERNANDO DE CASTRO

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA
CENTRO NACIONAL DE ENSINO E PESQUISAS
AGRONÔMICAS
RIO DE JANEIRO**

**Ocorrência e capacidade de fixação de nitrogênio
de bactérias do gênero Beijerinckia nas séries de
solos da área territorial do Centro Nacional de
Ensino e Pesquisas Agronômicas.**

Pelos Engenheiros Agrônomos

JOHANNA DÖBEREINER

e

ABEILARD FERNANO DE CASTRO

COMISSÃO DE PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS TÉCNICOS

Abellard Fernando de Castro

Alfredo Cesar do Nascimento

Altir Alves Martins Corrêa

RIO DE JANEIRO

1955

- 1 — Introdução
- 2 — Material e Métodos
- 3 — Resultados
- 4 — Discussão
- 5 — Conclusões
- 6 — Sumário
- 7 — Zusammenfassung
- 8 — Summary
- 9 — Bibliografia

1 — INTRODUÇÃO

Há poucos anos é que foi caracterizado um novo grupo de bactérias que fixam, assimbioticamente, o nitrogênio atmosférico, em solos tropicais. STARKEY e DE (12) descreveram uma nova espécie como *Azotobacter indicum*, isolada de solos ácidos de cultura de arroz, na Índia. BURK (1), no entanto, põe em dúvida a inclusão desta espécie no gênero *Azotobacter*. DERX (3) isolou, na Indonésia, esta espécie, uma variante dela sem pigmentação e mais uma outra espécie; propôs juntá-las num novo gênero da família Azotobacteriaceae, o qual denominou de *Beijerinckia*.

Seguindo a nova taxonomia de TCHAN (15), o novo gênero tem as seguintes espécies:

Beijerinckia indica (Starkey e De, 1939, sin. *Azotobacter indicum*) (12).

Beijerinckia indica var. *alba* (Derx, 1950) (3).

Beijerinckia motile, (Derx, 1950) (3).

Beijerinckia lacticogenes (Kaufman e Toussaint, 1951, sin. *Azotobacter lacticogenes*) (9).

As características dêste novo gênero são as seguintes: Gram-negativos, bastonetes retos ou pouco curvados, caracterizados por glóbulos redondos muito refringentes, provavelmente de consistência gordurosa; não forma endospóro, às vezes móvel, aeróbio, desenvolve-se em meio de pH 3,5-9,0, fixa nitrogênio atmosférico na ausência de nitrogênio combinado; o crescimento é acompanhado de formação de ácido

e, em algumas espécies, de formação de grandes quantidades de um muco elástico; não se desenvolve em "nutrient broth" com peptona.

Pouco se sabe ainda sobre o papel destas bactérias na economia do nitrogênio e sua influência na manutenção da fertilidade dos solos em clima tropical, onde, devido à acidez, o *Azotobacter* é encontrado em pequenas quantidades. TCHAN (16) menciona uma distribuição relativamente grande de *Beijerinckia* ao norte do paralelo 20 na Austrália, onde ele isolou este gênero de 17 entre 48 amostras de solos com pH compreendido entre 5,1 e 7,6.

A presença, não muito abundante, mas notável, de *Azotobacter* nos solos ácidos da região onde se encontra instalado o C.N.E.P.A., foi relatada por DOBEREINER (5).

Uma ocorrência muito maior, verificamos agora, do gênero *Beijerinckia*, nos nossos solos e, por esta razão, realizamos o presente trabalho, analisando sistematicamente a distribuição deste gênero nas diversas séries de solos da área territorial do C.N.E.P.A.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 4 amostras de cada série, em locais diferentes, utilizando-se uma espátula esterilizada e recolhendo o material em latas estéreis. Para evitar variações provocadas pela temperatura e pela umidade, coletamos as amostras de 15 em 15 dias, de modo a obtermos uma amostra de cada série em cada época de amostragem.

As amostras muito úmidas eram deixadas a secar ao ar, por poucos minutos, até terem a consistência necessária para passarem através de uma peneira de 1 mm de malha. Duas sub-amostras de 0,5 g foram distribuídas, tão uniformemente quanto possível, em 4 placas de sílica-gel de 9 cm de diâmetro (0,5 g para cada 2 placas).

Usamos o meio de sílica-gel de WINOGRADSKY (17) impregnado com a solução padrão de WINOGRADSKY e glucose, com pH = 6,0. As placas foram incubadas à 30° C e exami-

nadas de 2 em 2 dias. As colônias que surgiam eram marcadas na base das placas; as colônias maiores se uniam dificultando e mesmo impedindo a numeração.

Destas colônias isolámos, com relativa facilidade, as bactérias do gênero *Beijerinckia*, usando 5 ml de água esterelizada com um pouco de areia, para fazer uma suspensão com células bem separadas. Nas placas com meio de agar, inoculadas com esta suspensão, obtivemos colônias puras de *Beijerinckia*. Estas colônias foram logo inoculadas em meio líquido com sacarose, para a determinação da capacidade de fixação de nitrogênio. O meio usado para êste fim foi o meio 77 de FRED e WAKSMAN (6), substituindo o manitol por 15 g de sacarose e acrescentando 0,007 g de NaMoO_2 e 1,0 g de agar (8). Usamos frascos de erlenmeyer de 500 ml com 50 ml de meio de cultura.

O nitrogênio foi determinado pelo método clássico de KJELDAHL, em aparelho de micro-determinação; na digestão, usámos a mistura de sais (11) constituída de 10 g de sulfato de cobre, 1.000 g de sulfato de potássio e 8 g de selênio pulverizado.

O método de sílica-gel é muito discutido por diversos autores devido à preparação demorada e complicada; num laboratório onde a preparação destas placas tornou-se rotina, o método satisfaz plenamente. Uma vez preparadas, em grande quantidade, as soluções, de silicato de sódio, de ácido clorídrico e de sais, as demais operações são rapidamente realizadas. Outra objeção a êste método é a menor sensibilidade, notada por JENSEN (7), TCHAN (14) e também por DOBEREINER (5), em relação aos meios líquidos. As bactérias dentro do solo ocorrem, normalmente, em colônias pequenas. Na placa de sílica-gel, inoculada com 0,25 g, aparece uma colônia grande de cada micro-colônia do solo; no meio líquido trabalha-se com 1 g de solo, ou mais, em cada frasco e, assim, de uma única célula, em uma grama, pode se desenvolver uma cultura de *Azotobacter* ou de *Beijerinckia*. Achamos que na prática uma única célula não apresenta interesse mas sim o número de microcolônias em

uma grama de solo, ativas e eficientes. Por esta razão foi que usámos nestes ensaios somente o meio de silica-gel.

Para o exame microscópico rápido preparámos lâminas em "vet mount" com uma gota de Lugol. É muito fácil identificar por este método as células de Beijerinckia, com os dois glóbulos tomando coloração amarelo-pardo. Para o estudo morfológico mais detalhado, desenvolvemos as seguintes colorações:

a) — *Coloração negativa (BURRI, modificado)*

Esfregar com laminula uma gota de uma cultura líquida com duas gotas de uma solução saturada aquosa de Nigrosina. As células com os glóbulos aparecem brancas e a massa mucilaginosa colorida de rôxo.

b) — *Coloração dos glóbulos*

Preparar a lâmina, esfregando com alça uma gota de cultura com uma gota de ácido clorídrico à 2 %, aquecendo na chama, com cuidado, para não ferver. Assim, o muco se dissolve o que facilita a entrada do corante. A coloração é obtida em 10 minutos com solução saturada de Sudan Black em álcool à 70 %; os glóbulos aparecem uniformemente pretos.

c) — *Coloração do plasma e dos glóbulos*

Preparar a lâmina como em b; corar 15 minutos em solução saturada de Sudan III em 50 % de álcool e 50 % de glicerina. Lavar com água e, em seguida, corar 15 minutos em violeta de Genciana, solução aquosa 0,01 %. Os glóbulos aparecem coloridos de alaranjado e o plasma rôxo intenso.

Os solos utilizados são característicos das séries Itaguaí, Ecologia arenoso, Ecologia areno-limoso, Guandú e Seropédica (10).

3 — RESULTADOS

QUADRO I RESULTADOS GERAIS

S É R I E	Data da coleta das amostras	Vegetação	pH	N g/100 g	Número de bactérias por 1 g × 1000	Número de jungs por 1 g × 1000	Número de mi- crocolônias de Azotobacter por 1 g.	Número de mi- crocolônias de Beijerinckia por 1 g.
ITAGUAÍ	16/3/55	Mudas de citrus	4,00	0,07	2860	—	0	0
	1/4/55	Mata	4,40	0,27	—	—	0	8
	20/4/55	Pasto natural	5,25	0,20	5000	72	1	27
	13/5/55	Mudas de citrus	5,87	0,09	1490	13	52	2
ECOLOGIA tipo arenoso	16/4/55	Coqueiral com adubação verde	4,30	0,10	2695	—	0	0
	1/4/55	Pasto natural	4,55	0,08	—	—	0	24
	20/4/55	Mandiocal	4,40	0,06	2120	25	0	0
	13/5/55	Pasto enterrado	4,03	0,05	567	36	1	74

(Continua)

(Conclusão do Quadro I)

SÉRIE	Data da coleta das amostras	Vegetação	pH	N g/100 g	Número de bactérias por 1 g × 1000	Número de fungos por 1 g × 1000	Número de microcolônias de Azotobacter por 1 g.	Número de microcolônias de Beijerinckia por 1 g.
ECOLOGIA tipo areno-limoso	16/3/55	Pasto natural	3,80	0,09	3096	—	0	163
	1/4/55	Mata	5,20	0,10	—	—	0	21
	20/4/55	Pasto natural	3,72	0,06	910	55	0	6
	13/5/55	Arroz enterrado	5,02	0,09	3160	136	3	401
GUANDU	16/3/55	Cultura de arroz	4,80	0,26	6919	—	1	16
	1/4/55	Cultura de arroz	5,10	0,23	—	—	1	66
	20/4/55	Pasto natural	5,10	0,25	7740	50	0	39
	13/3/55	Cultura de arroz	5,50	0,13	3650	53	1	109
SEROPÉDICA	13/5/55	Pasto natural	3,75	0,08	2413	—	0	89
	1/4/55	Pasto natural	4,20	0,08	—	—	0	72
	20/4/55	Pasto natural	4,20	0,12	4810	87	0	251
	13/5/55	Pasto natural	4,30	0,08	2600	166	1	12

Q U A D R O I I
FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO

S É R I E	N.º	mg de N por 1 g de sacarose, fixado em 22 dias	OBSERVAÇÕES
ITAGUAÍ	1	11,0	
	2	11,2	
	3	6,5	Cultura contaminada
	4	7,7	Cultura contaminada
ECOLOGIA tipo arenoso	5	10,8	
	6	9,4	
	7	10,0	
	8	9,4	
ECOLOGIA tipo areno-limoso	9	9,9	
	10	9,2	
	11	8,8	
	12	9,2	
GUANDÚ	13	5,9	
	14	6,9	
	15	8,3	
	16	6,7	
SEROPÉDICA	17	12,4	
	18	—	Amostra perdida
	19	11,7	
	20	11,9	

4 — DISCUSSÃO

Três a quatro dias após a inoculação das placas de silica-gel, apareceram poucas colônias de *Azotobacter*. Somente nas placas inoculadas com uma amostra da série Itaguaí, de pH mais elevado ($\text{pH} = 5,87$), apareceram 52 colônias de *Azotobacter* por uma grama de solo. Verificamos, porém, em 8 das 20 amostras, com pH de 3,7 até 5,8, a presença de *Azotobacter*.

A partir do décimo primeiro dia depois da inoculação, apareceram as colônias de *Beijerinckia*. Achamos a diferenciação mais fácil e segura, entre *Azotobacter* e *Beijerinckia*, pelo tempo de aparecimento das colônias. Examinamos mais de 200 colônias, aparecidas depois de 11 dias em silica-gel, identificando todas como *Beijerinckia*.

As colônias de *Beijerinckia*, em geral, cresceram rapidamente, formando um muco elástico muito abundante; são colônias elevadas, brilhantes, brancas e uniformemente turvas. Em placas de silica-gel e sacarose, as colônias são menos duras e elevadas, espalhando-se mais rapidamente sobre a placa, dificultando a numeração. Por esta razão, damos preferência à glucose sobre a sacarose, apesar desta última proporcionar um desenvolvimento mais abundante.

O exame microscópico revelou as formas típicas de *Beijerinckia indica*, de tamanhos variando entre $2,6-4,6 \times 0,7-1,5$ micra, em nutrição de sacarose. Em meio de glucose, verifica-se o aumento do tamanho dos glóbulos até 2-3 micra, porque as células incham, nas extremidades, às vezes tanto que o plasma aparece como uma película circundando os grandes glóbulos. Essas formas grandes inoculadas em meio líquido de sacarose adquirem, novamente, a forma normal.

As características fisiológicas destas bactérias concordam com a descrição de STARKEY e DE e de DERX:

- a) — crescimento ótimo em sacarose e glucose;
- b) — crescimento médio em manitol, álcool etílico, agar albuminado;

- c) — crescimento fraco em dextrina, “nutrient broth” com glucose;
- d) — nenhum crescimento em “nutrient broth” com peptona;
- e) — em meio de agar com pH 2,9 até 8,4, a bactéria se desenvolve bem.

As bactérias são gram-negativas, formam ácido a partir de carboidratos. Não foi observada motilidade, apesar de STARKEY a ter observado em certas condições. Pigmento pardo claro depois de 3-4 semanas, observámos na maioria das tribos isoladas; algumas tribos aparecem sem pigmento (var. alba, Derx).

Além de Beijerinckia indica e a variedade alba, que dominaram, encontrámos, ainda, em menor quantidade, outras espécies de Beijerinckia que ainda não identificámos.

No Quadro I apresentamos os números das colônias em silica-gel, para uma grama de solo das diversas séries, o pH, o teor de nitrogênio de cada amostra coletada, bem como os números totais de bactérias, fungos e Azotobacter.

O Quadro II mostra a capacidade de fixação de nitrogênio de quatro tribos de cada série de solo.

A ocorrência abundante de bactérias do gênero Beijerinckia, que até a presente data somente foi isolada na Austrália, Índia e Indonésia, pode nos indicar uma das respostas à pergunta sobre o suprimento de nitrogênio em nossos solos.

Apesar de TCHAN (16) não achar correlação entre solo, vegetação e ocorrência de Beijerinckia, pensamos, no entanto, haver esta correlação. Com uma excessão verificada na série Ecologia tipo areno-limoso a vegetação de pasto e arroz parece favorecer o desenvolvimento de colônias de Beijerinckia.

Os números mais altos foram observados nos solos das séries Ecologia tipo areno-limoso e Seropédica, provavelmente devido à maior pobreza desses solos (2).

A ausência de *Beijerinckia* nos solos sem cobertura vegetal da série Ecologia tipo arenoso, pode ser explicada pelo baixo teor de matéria orgânica além das deficiências minerais.

Estas justificativas não podem, certamente, ser absolutas, representam, apenas, uma tentativa de explicação do fato; devemos ter em vista que o complexo equilíbrio da vida microbiana no solo depende de um número muito maior de fatores.

As bactérias do gênero *Beijerinckia* não parecem sensíveis à acidez do solo, pois achamos grandes ocorrências em solos com pH 3,8; 4,2, etc. Este fato, nos deixa compreender a ocorrência destas bactérias em nossos solos ácidos, onde o gênero *Azotobacter* se desenvolve com limitações.

A capacidade de fixação de nitrogênio, das tribos isoladas dos solos das várias séries, varia entre 5,91 e 12,4 mg por uma grama de sacarose, o que corresponde aos dados de JENSEN, STARKEY, etc.

Pelo fato de termos realizado tais determinações depois de obtermos culturas em meios artificiais em tempo mais curto possível (no máximo 25 dias), foi-nos possível verificar uma diferença na capacidade de fixação entre as linhagens isoladas das diversas séries de solos. Observamos uma capacidade menor das bactérias isoladas dos solos da série Guandú, provavelmente devido à relativa riqueza desses solos em nitrogênio e matéria orgânica.

5 — CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos possibilitam concluir:

- 1) — Há ocorrência do gênero *Beijerinckia* nas séries de solos da área territorial do C.N.E.P.A.
- 2) -- A maior ocorrência é nos solos das séries Seropédica e Ecologia tipo areno-limoso.
- 3) — A maior ou menor ocorrência de *Beijerinckia*, provavelmente, está na dependência da cobertura vegetal,

- das características físicas e químicas do solo e, ainda, do teor de nitrogênio orgânico.
- 4) — O pH do solo parece não interferir na ocorrência de *Beijerinckia*; verificámos a existência de colônias desde pH 3,7 até 5,8.
 - 5) — O gênero *Beijerinckia* tem uma capacidade de fixação do nitrogênio atmosférico idêntica à do gênero *Azotobacter*.
 - 6) — As tribus isoladas de solos que continham nitrogênio orgânico (solos com teor de matéria orgânica relativamente alto) foram as que apresentaram menor poder de fixação de nitrogênio.

6 — SUMÁRIO

Bactérias do gênero *Beijerinckia*, isoladas, até a presente data, somente de solos da Austrália, Índia e Indonésia, foram constatadas em grande abundância nas séries de solos que ocorrem na área territorial do Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas, município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

A maior ou menor abundância destas bactérias parece estar relacionada com a vegetação e com as características físicas e químicas dos solos.

Dois, dos três solos mais deficientes em elementos nutritivos, apresentaram maior quantidade de colônias.

O pH do solo não parece influenciar a ocorrência das bactérias.

A capacidade de fixação de nitrogênio, das tribus aqui isoladas, pode ser comparada à capacidade demonstrada por *Beijerinckia* isolado nos países orientais e mesmo à capacidade de fixação do gênero *Azotobacter*.

Notou-se uma maior capacidade de fixação nas tribus isoladas de solos pobres; o mínimo de fixação foi observado nas tribus isoladas de solos com maior teor de matéria orgânica e nitrogênio.

7 — ZUSAMMENFASSUNG

Die bisher nur in Australien, Indien und Indonesien bekannten, stickstoffbindenden Bakterien des Genus *Beijerinckia* (Derx 1950) wurden in grosser Zahl in den Boeden des Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas im Bezirk Itaguaí, im Staate Rio de Janeiro, Brasilien gefunden.

Die groessere oder kleinere Anzahl der Beijerinckiaolonien scheint abhaengig von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Bodens und von der Vegetation. Zwei der drei aermsten Boeden enthielten die meisten Beijerinckiaolonien.

Der PH des Bodens scheint ohne Einfluss auf die Entwicklung dieser Bakterien.

Das Stickstoffbindevermoegen der hier isolierten Staemme von 5,9 bis 12,4 mg N/1g Sucrose ist aehnlich denjenigen, der in den oestlichen Laendern isolierten *Beijerinckia* und gleichbedeutend mit dem von *Azotobakter*.

Die aus armen Boeden isolierten Staemme zeigen eine hoehere Stickstoffbindung, und die geringste Stickstoffbindung wurde bei den vier, aus dem stickstoffreichsten Boden isolierten Staemmen festgestellt.

8 — SUMMARY

Bacteria belonging to the genus *Beijerinckia* (syn. *Azotobacter indicum*) which have been reported in some Indian, Australian and Indonesian soils were found in great abundance in the soils occurring in the area of the Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas in the Itaguaí District, Rio de Janeiro State, Brazil.

The number of colonies of *Beijerinckia* in one gram of soil determined in Petri dishes with silica gel media varied somewhat between 0 and 401. Among 20 samples of five different soil series only three didn't contain *Beijerinckia*.

The abundance of these bacteria seems to be related with the vegetation and the physical and chemical proper-

ties of the soils. The soil pH seems to have no influence on the occurrence of the *Beijerinckia* because it was found a great number of them in soils with pH 3,8-4,2 etc. This fact explains why these bacteria can develop in our acid soils, where *Azotobacter* develops only with limitations and also it can indicate to us the answer to the question of nitrogen supplement of our soils.

The N-fixing capacity of the isolates strains can be compared with the capacity of *Beijerinckia* isolated in the Oriental Countries and even with the capacity of *Azotobacter*. It was observed a higher N-fixing capacity by the strains isolated from poor soils; the lowest fixation was observed on the strains isolated from the soil richest on organic matter and nitrogen.

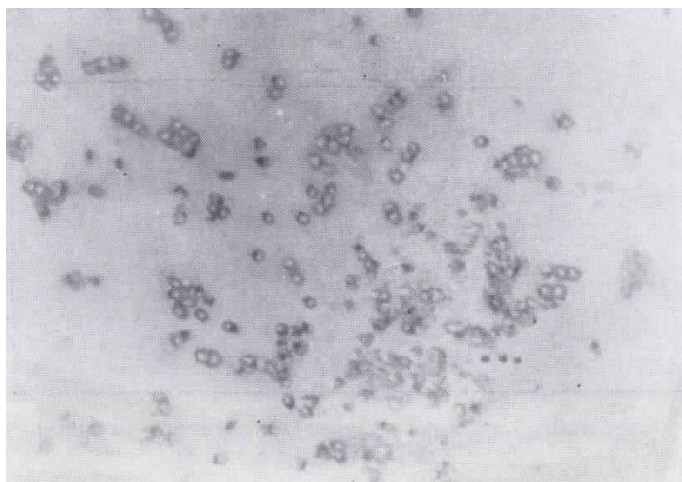
9 — BIBLIOGRAFIA

- 1 — BURK, D. — Transact. of the third Comm. of Int. Soc. of Soil Sci. New Brunswick, Vol. B (Discussões): 36, 1939.
- 2 — CASTRO, A. F. DE — Ensaios de diagnose de fertilidade nas séries de solos da Baixada de Sepetiba. Tese apresentada ao V Cong. Bras. Cie. do Solo Pelotas 1955.
- 3 — DEX H. G. — *Beijerinckia*, a new genus of N-fixing bacteria occurring in tropical soils. Proc. Koninklijke Nederlandse Akad. von Wetenschappen Amsterdam 63:3-10, 1950.
- 4 — DEX H. G. — Further researches on *Beijerinckia*. Ann. Bor-gorienses. Relatado em Biological Abstracts. Vol. 27, n.º 10136, 1953.
- 5 — DÖBEREINER, J. — *Azotobacter* em solos ácidos. Boletim n.º 11 do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas, 1953.
- 6 — FRED, E. B. e S. A. WEKSMAN — Laboratory Manual of General Microbiology. McGraw-Hill Book Comp. Inc., New York e London, 1928.
- 7 — JENSEN, H. L. e R. J. SWABY — Further investigations on the Nitrogen-fixing bacteria in soil. Proc. Linn. Soc. N. S. Wales, 65(5/6):557-564, 1940.
- 8 — JENSEN, H. L. — The influence of molibdenum, calcium and agar on the N-fixation by *Azotobacter indicum*. Proc. Linn. Soc. N. S. Wales, 72:299, 1948.

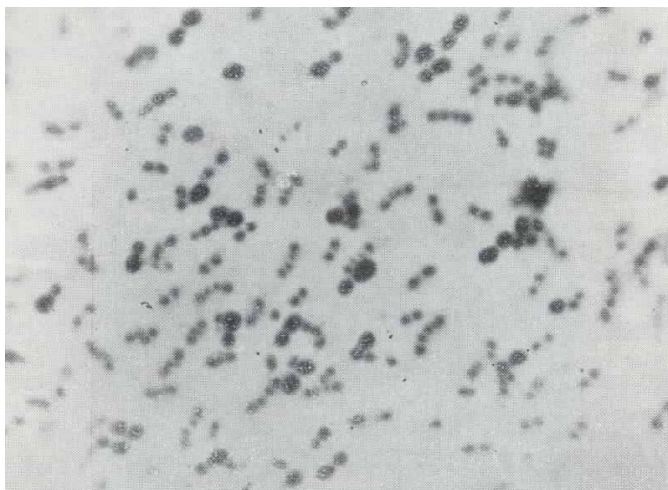
- 9 — KAUFFMANN, J. e P. TOUSSAINT — Un nouveau germe fixateur de l'azote atmosphérique: *Azotobacter lacticogenes*. *Révue général de Botanique*, 58:553, 1951.
- 10 — MENDES, W., P. O. C. LEMOS, R. C. LEMOS, L. G. O. CARVALHO e R. J. ROSENBERG — Contribuição ao mapeamento, em séries, dos solos do Município de Itaguaí. *Boletim n.º 12 do Inst. Ec. Exp. Agrícolas*, 1954.
- 11 — RONDINI, M. A. S. — Evaluación del nitrogeno en suelos por Kjeldahl sin destilación. *Rev. de Invest. Agric. t. III n.º 4*:309-318, 1950.
- 12 — SRATKEY, R e P. DE — A new species of *Azotobacter*. *Soil Sci.* 57:329-343, 1939.
- 13 — STARKEY, R. — The influence of reaction upon the development of an acid-tolerant *Azotobacter*. *Transact. third Comm. of the Int. Soc. Soil Sci.*, Vol. A:142, 1939.
- 14 — TCHAN, Y. T. — Studies on N-fixing bacteria II. The presence of aerobic nonsymbiotic N-fixing bacteria in soils of the Sydney District. *Proc. Linn. N. S. Wales*, 77(1/2):92-97, 1952.
- 15 — TCHAN, Y. T. — Studies on N-fixing bacteria IV. Taxonomy of genus *Azotobacter*. *Proc. Linn. Soc. N. S. Wales*, 78: 85-89, 1953.
- 16 — TCHAN, Y. T. — Studies on N-fixing V. Presence of *Beijerinckia* in Northern Australia and geografic distribution. *Proc. Linn. Soc. N. S. Wales*, 78:171-178, 1953.
- 17 — WINAGRADSKY, S. — Etude sur la Microbiologie du sol. *Ann. Inst. Pasteur*, 48, 1932.



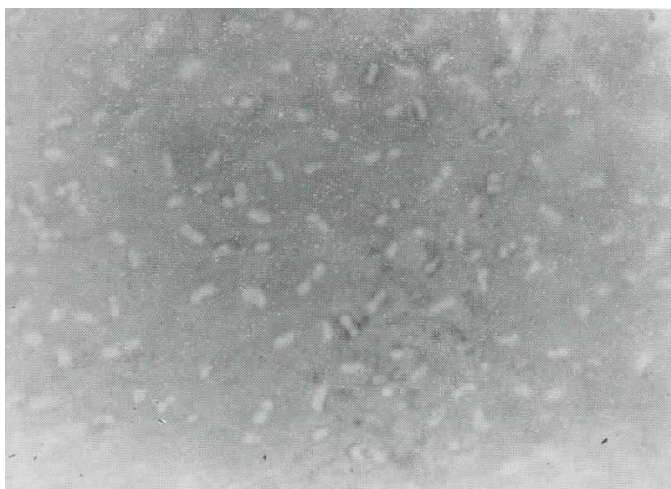
Placa com sílica-gel, inoculada com solo, mostrando colônias de Beijerinckia.



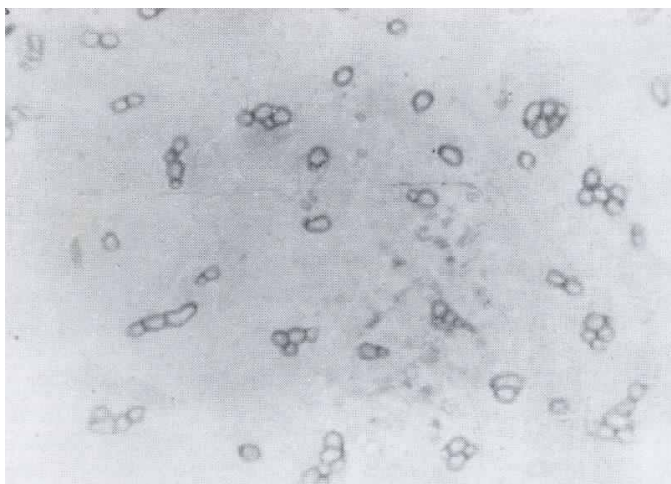
Beijerinckia em meio de sacarose, forma normal, coloração violeta de Genciana. Aumento: 1200 x.



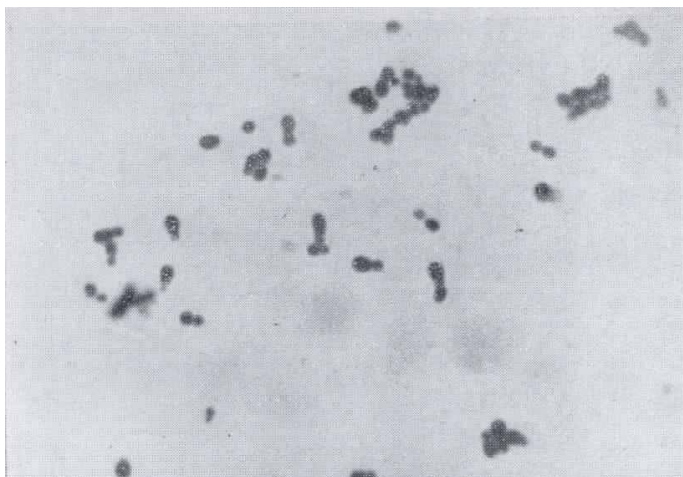
Beijerinckia em meio de sacarose, coloração Sudan Black.
Aumento: 1200 x.



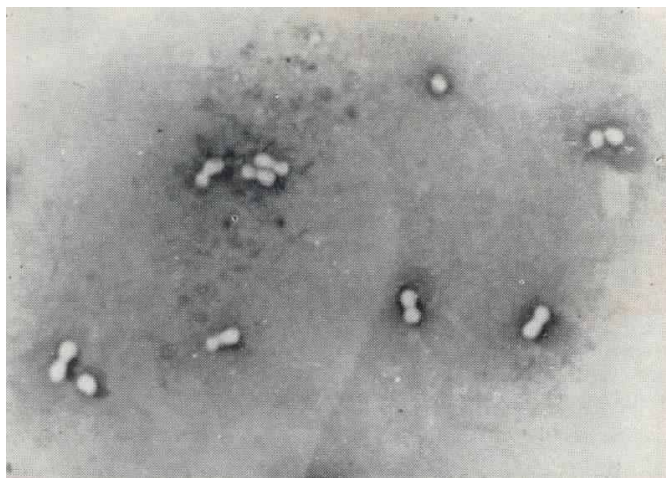
Beijerinckia em meio de sacarose, coloração negativa
de Nigrosina. Aumento: 1200 x.



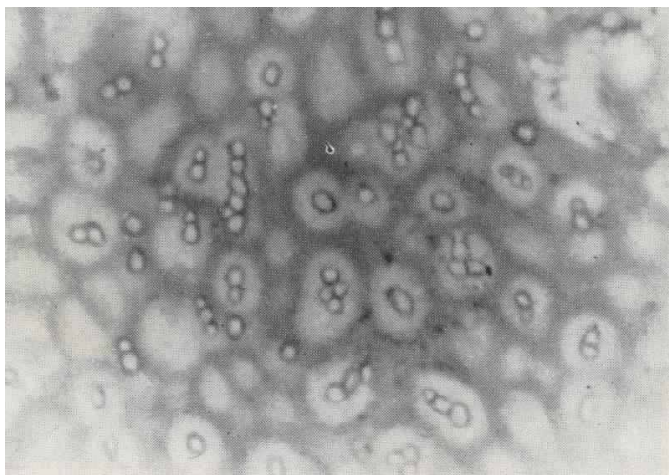
Beijerinckia em meio de glucose, coloração violeta de Genciana.
Aumento: 1200 x.



Beijerinckia em meio de glucose, coloração Sudan Black.
Aumento: 1200 x.



Beijerinckia em meio de glucose, coloração negativa de Nigrosina. Aumento: 1200 x.



Beijerinckia em meio de glucose, coloração violeta de Genciana, mostrando a cápsula mucilaginosa. Aumento: 1200 x.

BOLETINS DO INSTITUTO DE ECOLOGIA E EXP. AGRÍCOLAS

Ns.

- 1 — Ensaio de Adubação de Fumo na Bahia. Carlos Barbosa de Souza e G. J. Fisher. 1941.
- 2 — Contribuição ao Conhecimento dos Têxteis Nacionais. Okiro de Sena Braga e Wittus Christiano Wöllner. 1941, 2.^a Ed. 1950.
- 3 — Causas determinantes do reverdecimento de laranjas maduras em colheitas pendentes, e do secamento das macro-células da polpa dos frutos, na região peduncular. José Eurico Dias Martins. 1942.
- 4 — A broca da cana de açúcar e seus parasitos em Campos, Estado do Rio de Janeiro. Herval Dias de Souza. 1942.
- 5 — Experimentação fatorial de adubação (trigo e linho). Raul Edgar Kalkmann. 1943.
- 6 — Investigações básicas para o melhoramento da mamoneira. Grijalva Rodrigues Fernandes. 1944.
- 7 — Contribuição para o melhoramento do guando (*Cajanus indicus*) (Spreng). Osvaldo Bastos de Menezes. 1951.
- 8 — Catálogo dos Erythylideos (Col) das coleções do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas, com a descrição de algumas espécies novas. Jacinto Guérin. 1948.
- 9 — Comportamento de combinações híbridas simples, complexas e sintéticas do milho (*Zea mays* L). Osvaldo Bastos de Menezes. 1952.
- 10 — IV — Melhoramentos da Batata Doce (*Ipomea batatas* (L) Lam.). Ciclo Vegetativo — Osvaldo Bastos de Menezes. Norma Bergallo de Arruda e Waldir de Oliveira Nunes. 1952.
- 11 — Azotobacter em Solos Ácidos — Johanna Döbereiner. 1953.
- 12 — Contribuição ao mapeamento, em séries, dos solos do Município de Itaguaí. Waldemar Mendes, Petezval de Oliveira e Cruz Lemos, Raymundo Costa Lemos, Luiz Gonzaga de Oliveira Carvalho e Renato José Rosenberg. 1954.
- 13 — A influência da cal na adubação fosfatada. Waldemar Mendes e Abeillard Fernando de Castro. 1954.
- 14 — Contribuição ao estudo do efeito residual dos fosfatos de Trauhya natural e calcinado. Roberto Alvahydo e Johanna Döbereiner. 1955.
- 15 — Contribuição ao estudo da capacidade de armazenamento da água das chuvas em solos da série Itaguaí. Petezval Lemos e Abeillard Fernando de Castro.