


DEISE MACHADO FERREIRA DE OLIVEIRA

<b>UFV</b>	BIBLIOTECA BBT	COD. RG000567432
	CLASSIFICACAO T 631.847 / 048a	
TITULO Atividade de fosfatase alcalina em bactero		
		
100012		BBT

ATIVIDADE DE FOSFATASE ALCALINA EM BACTERÓIDES EXTRAÍDOS DE  
PLANTAS DE SOJA (Glycine max (L.) Merrill) E FEIJÃO  
(Phaseolus vulgaris L.) CULTIVADAS EM DIFERENTES  
DOSES DE FÓSFORO

BIBLIOTECA CENTR - U F V - 100.012 06.09.91
--

Tese Apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como Parte das Exigências do Curso de Microbiologia Agrícola, para Obtenção do Título de "Magister Scientiae".

DOAÇÃO

T  
631.847  
048a  
1991  
ex.1

VIÇOSA

MINAS GERAIS - BRASIL

JULHO - 1991

Ficha catalográfica preparada pela Área de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

O48a  
1991

Oliveira, Deise Machado Ferreira de.

Atividade de fosfatase alcalina em bacteroïdes  
extraídos de plantas de soja (Glycine max. (L.)  
Merrill) e feijão (Phaseolus vulgaris L.) culti-  
vadas em diferentes doses de fósforo. Viçosa, UFV,  
1991.

53p.

Tese (M.S.) - UFV

1. Rhizobium - Fosfatase alcalina - Efeito da  
aplicação de fósforo. 2. Bradyrhizobium - Inocu-  
lação em soja. 3. Rhizobium - Inoculação em feijão.  
4. Soja - Fixação de nitrogênio. 5. Feijão - Fi-  
xação de nitrogênio. I. Universidade Federal de  
Viçosa. II. Título.

CDD 18.ed. 631.847

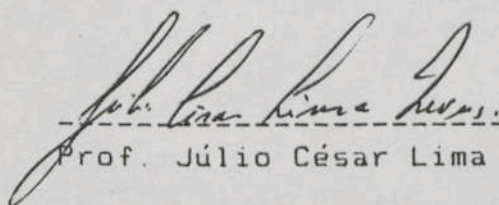
CDD 19.ed. 631.847

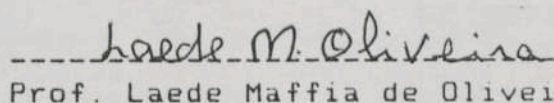
DEISE MACHADO FERREIRA DE OLIVEIRA

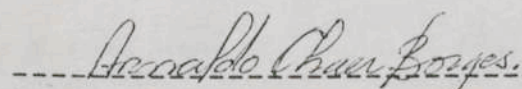
ATIVIDADE DE FOSFATASE ALCALINA EM BACTERÓIDES EXTRAÍDOS DE  
PLANTAS DE SOJA (Glycine max (L.) Merrill) E FEIJÃO  
(Phaseolus vulgaris L.) CULTIVADAS EM DIFERENTES  
DOSES DE FÓSFORO

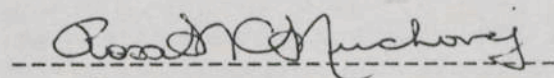
Tese Apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como Parte das  
Exigências do Curso de Micro-  
biologia Agrícola, para Obtenção  
do Título de "Magister Scientiae".

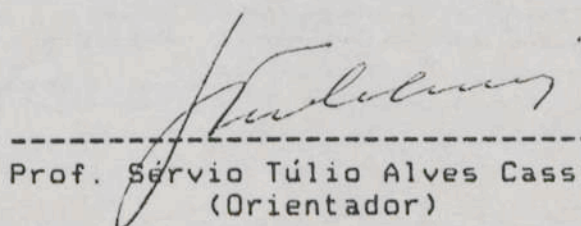
APROVADA: 28 de fevereiro de 1991.

  
-----  
Prof. Júlio César Lima Neves

  
-----  
Prof. Laede Maffia de Oliveira

  
-----  
Prof. Arnaldo Chaer Borges  
(Conselheiro)

  
-----  
Profª Rosa Maria C. Muchovej  
(Conselheira)

  
-----  
Prof. Sérgio Túlio Alves Cassini  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe, minha irmã e meu cunhado, pelo incentivo, sacrifício e compreensão.

Ao compachito Sérgio Boratto, meu especial agradecimento, pela compreensão e pelo carinho, pela lição de vida.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realização do curso, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Sérgio Túlio Alves Cabini, por sua orientação, dedicação e pelo apoio.

Aos professores Rosa Maria Castro Muchover, Arnaldo César Borges, Maria Catarina Nepumi Katuna, pelas valiosas sugestões e pelo estímulo.

Ao pesquisador Fernando Faria Duarte e família, pelo apoio e pela amizade.

Ao professor Alípio César Lima Neves, pelo estímulo e pela amizade.

Ao professor Leode Ruffix de Oliveira, por sua orientação, especialmente na parte de análises estatísticas.  
À pesquisadora Cleide Maria Ferreira Pinto, pelo exemplo e pelo apoio.

À amiga Marília Calixta Franco e família, pela colaboração, pela amizade e pela convivência.

Aos amigos Alex e Aurélio, Beatriz Castanheira, Carlos Domingos, Carmo, AGRADECIMENTOS, Elv. Elpidio, F. Filho, Iza, Luiza, Luís Coslino, Márcia Rossi, Ricardo Coelho e Teógenes Sena, pela amizade e pelo agradável convívio.

A minha mãe, minha irmã e meu cunhado, pelo incentivo, sacrifício e compreensão.

Ao companheiro Adriano Boratto, meu especial agradecimento, pela colaboração, pela compreensão e pelo carinho.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realização do curso, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Sérgio Túlio Alves Cassini, por sua orientação, dedicação e pelo apoio.

Aos Professores Rosa Maria Castro Muchovej, Arnaldo Chaer Borges, Maria Catarina Megumi Kasuya, pelas valiosas sugestões e pelo estímulo.

Ao pesquisador Fernando Faria Duque e família pelo apoio e pela amizade.

Ao professor Júlio César Lima Neves, pelo estímulo e pela amizade.

Ao professor Laede Maffia de Oliveira, por sua orientação, especialmente na parte de análises estatísticas.

À pesquisadora Cleide Maria Ferreira Pinto, pelo exemplo e pelo apoio.

À amiga Marília Caixeta Franco e família, pela colaboração, pela amizade e pela convivência.

Aos amigos Alex e Andréa, Beatriz Castanheira, Carlos Domingos, Carmelita, Carmo, Darcet, Ely, Elpídio I. F. Filho, Iza, Luiza, Luís Coelho, Márcia Rosa, Ricardo Coelho e Teógenes Senna, pela amizade e pelo agradável convívio.

À amiga Maristela Pereira, pela ajuda imprescindível, pelo incentivo e pelo agradável convívio.

Aos colegas de curso pelo convívio e pela ajuda mútua.

Ao Engenheiro Florestal Joaquim Gregório pelo auxílio nas análises do experimento.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## CONTÉUDO

### BIOGRAFIA

DEISE MACHADO FERREIRA DE OLIVEIRA, filha de Antônio Carlos Ferreira de Oliveira e Belmira Machado Ferreira de Oliveira, nasceu em Rio Preto, Minas Gerais, em 04 de maio de 1963.

Em 1986, graduou-se Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Viçosa.

Em 1987, iniciou, na Universidade Federal de Viçosa, o curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola, na área de Microbiologia do Solo.

## CONTEÚDO

### EXTRATO

	Página
EXTRATO .....	vii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	17
4.1. Experimento com Soja .....	17
4.2. Experimento com Feijão .....	23
5. RESUMO E CONCLUSÕES .....	31
BIBLIOGRAFIA .....	33
APÊNDICE .....	39



EXTRATO

OLIVEIRA, Deise Machado Ferreira de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 1991. Atividade de Fosfatase Alcalina em Bacteróides Extraídos de Plantas de Soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivadas em Diferentes Doses de Fósforo. Professor Orientador: Sérgio Túlio Alves Cassini. Professores Conselheiros: Rosa Maria Castro Muchovej e Arnaldo Chaer Borges.

Com o objetivo de avaliar os efeitos da aplicação de doses de fósforo em um solo sobre a atividade da enzima fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos dos nódulos de plantas de soja inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e plantas de feijão inoculadas com estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, foram conduzidos experimentos em casa de vegetação, utilizando-se plantas crescidas em amostras de um Latossolo Vermelho-Amarelo de Viçosa. Plantas de soja variedade 'Uberaba', inoculadas com *B. japonicum* estirpes Br 29, Br 52-a, Br 33 e Br 96 e cultivadas em vasos com solo contendo quatro doses de fósforo (50, 100, 200 e 400 mg P/kg solo). Aos 45 dias do

plantio, determinou-se o peso de nódulos frescos e avaliou-se a atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos desses nódulos, avaliando-se também a produção de matéria seca da planta, teor e acumulação de nitrogênio e fósforo na parte aérea.

No experimento com feijão, conduzido de modo semelhante ao experimento com soja, utilizou-se a variedade 'Negro Argel' inoculada com R. leguminosarum bv. phaseoli estirpes Br 266, Br 10008, Br 322 e Br 281, procedendo-se às mesmas avaliações ao final de 45 dias após o plantio.

Os resultados levaram às seguintes conclusões:

- A atividade de fosfatase alcalina avaliada nos bacteróides extraídos dos nódulos de soja e feijão variou com as doses de fósforo no solo.
- A atividade de fosfatase alcalina em bacteróides dos nódulos de feijão (R. leguminosarum bv. phaseoli) foi mais elevada do que a atividade dos bacteróides dos nódulos de soja (R. japonicum).
- A resposta às doses de fósforo utilizadas no solo foi positiva para produção de matéria seca da parte aérea e raiz e peso de nódulos frescos, tanto para a soja, como para o feijão.
- O conteúdo de nitrogênio nas plantas de feijão e soja foi dependente da concentração de fósforo no solo.

## 1. INTRODUÇÃO

A soja (Glycine max (L.) Merrill) e o feijão (Phaseolus vulgaris (L.)) são importantes não apenas por representarem fonte de proteínas e energia para a alimentação humana e animal, como também pela posição de destaque que ocupam na economia do País. No ano agrícola de 1986/1987, a área cultivada com soja foi de 10.515.000 ha, com um rendimento médio de 1.717 kg/ha (FAO, 1988), sendo o Brasil atualmente um dos maiores produtores e exportadores de soja, participando com 19% da produção mundial. Já a cultura do feijão, no mesmo ano agrícola, produziu 29.410.000 ton. o que correspondeu a 18,9% da produção mundial, com um rendimento médio de 495 kg/ha.

A expressão do potencial de produção das culturas de soja e feijão, dentre outros fatores, depende de um adequado fornecimento de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo. O nitrogênio pode ser suprido por meio da fixação simbiótica do  $N_2$  atmosférico ou pelo uso de formas de nitrogênio mineral encontradas no solo. A capacidade dessas

leguminosas em estabelecer uma simbiose eficiente com bactérias dos gêneros Bradyrhizobium e Rhizobium, reduz a necessidade da adição de fertilizantes nitrogenados orgânicos ou inorgânicos a solos deficientes nesse nutriente.

A eficiência de fixação de nitrogênio em soja e feijão está diretamente relacionada com a disponibilidade de fósforo. É sabido que a demanda por energia, na forma de ATP, é grande durante o processo de fixação biológica do  $N_2$  atmosférico. Conseqüentemente, para se aumentar a produtividade em solos com deficiência desse nutriente, é necessário introduzir estirpes eficientes em fixar nitrogênio atmosférico e em utilizar o fósforo disponível.

Em condições de baixa disponibilidade de fósforo, os rizóbios aparentemente são capazes de utilizar o fósforo presente em compostos orgânicos, por indução da enzima fosfatase alcalina. A atividade dessa enzima em rizóbios crescendo em vida livre é mais elevada quando o meio de cultura torna-se deficiente em fósforo inorgânico. Em rizóbios vivendo em simbiose, a atividade da fosfatase alcalina tem sido pouco estudada. Estirpes de rizóbio que apresentam maior atividade de fosfatase alcalina poderiam ser mais adaptadas às condições de baixa disponibilidade de fósforo no solo.

Considerando-se que a eficiência das estirpes depende das espécies e cultivares de plantas hospedeiras e das condições de solo e ambiente, torna-se necessária a condução de estudos em condições adequadas para que sejam

selecionados rizóbios que expressem seu potencial máximo em fixar nitrogênio.

O presente trabalho foi conduzido tendo-se como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de doses de fósforo sobre a atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos de plantas de soja e feijão inoculadas com diferentes estirpes de rizóbio e sobre a produção de matéria seca, conteúdo de nitrogênio e fósforo dessas plantas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A soja (Glycine max (L.) Merrill) e o feijão (Phaseolus vulgaris L.) requerem, entre outros fatores, altos níveis de nitrogênio (RUSCHEL et alii, 1979; SINCLAIR e DE WIT, 1976) e fósforo (CASSMAN et alii, 1981; ISRAEL, 1987), para expressar seu potencial máximo de produção. A necessidade de nitrogênio pode ser suprida pelo nitrogênio fixado simbioticamente pelas bactérias B. japonicum e R. leguminosarum bv. phaseoli, para as respectivas leguminosas. Essas bactérias, em contato com o sistema radicular da soja e do feijão, promovem a infecção e a formação de nódulos radiculares onde se processa a fixação e a assimilação do nitrogênio atmosférico.

Segundo BATES (1971), a resposta das plantas a um determinado elemento, principalmente fósforo, depende da quantidade e disponibilidade do elemento no solo e das suas interações com outros nutrientes.

A influência do fósforo sobre a fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em leguminosas tem sido

demonstrada (ISRAEL, 1987; JAKOBSEN, 1985; LEUNG e BOTTOMLEY, 1987; MULLEN et alii, 1988; SHARPE, 1986). O fósforo pode afetar o número de nódulos por planta, o peso de nódulos secos, o peso da parte aérea, folhas e raízes secas (GATES e WILSON, 1974; LYND et alii, 1984; REINSVOLD e POPE, 1987).

Estudos com soja inoculada e cultivada em solos com diferentes doses de fósforo foram efetuados por LINS et alii (1985) e PEREIRA (1986). Nesses trabalhos, os autores observaram que baixas concentrações de fósforo reduziām a massa e o número de nódulos por planta e, conseqüentemente, a quantidade de N<sub>2</sub> fixado. SAITO e RUSCHEL (1978) obtiveram resultados semelhantes para o feijoeiro.

Segundo SINGLETON et alii (1985), níveis baixos de fósforo no solo podem diminuir a eficiência da fixação simbiótica do nitrogênio, podendo ainda causar deficiência de nitrogênio na planta, reduzindo, conseqüentemente, a produção. ROBSON et alii (1981) demonstraram que o aumento dos níveis de fósforo disponível na solução do solo onde se cultivava o trevo (Trifolium sp.) determinou um aumento na eficiência da fixação simbiótica do nitrogênio e concluíram que esse aumento ocorreu em razão do estímulo ao crescimento da planta hospedeira. Porém, estudos com estilosantes (Stylosanthes humilis), soja (G. max) e ervilha (Pisum sativum) sugeriram que o fósforo tem um papel mais específico sobre a iniciação, o crescimento, o desenvolvimento e o funcionamento do nódulo (BETHELENFALVEY e YODER, 1981; GATES, 1979; JAKOBSEN, 1985).

Conclusões semelhantes foram obtidas por ISRAEL (1987), analisando o efeito do fósforo e do nitrogênio sobre o peso da massa seca e acumulação de nitrogênio em plantas de soja inoculadas com B. japonicum. O autor verificou também que o fósforo tem papel específico no processo de nodulação e na atividade do nódulo, juntamente com seu envolvimento nos processos de crescimento da planta hospedeira.

O processo de fixação de nitrogênio se caracteriza por um alto requerimento de energia metabólica na forma de ATP (adenosina tri-fosfato) (DIXON e WHEELER, 1980) e esta disponibilidade de ATP está diretamente relacionada com a disponibilidade de fósforo. Esse é um elemento essencial para o crescimento de espécies de Rhizobium (LEUNG e BOTTOMLEY, 1987) e Bradyrhizobium (ISRAEL, 1987). Existem, entretanto, variações entre estirpes em relação aos requerimentos específicos em fósforo para o seu crescimento em meio de cultura. Essas diferenças podem estar relacionadas com a capacidade de armazenamento de fosfato (Pi) e a utilização desse fosfato (Pi) armazenado para o crescimento dessas estirpes (BECK e MUNNS, 1984; SMART et alii, 1984a). Foi demonstrado por CASSMAN et alii (1981) que estirpes de B. japonicum diferem no seu potencial de armazenamento de Pi quando crescidas em meio de cultivo com excesso de fósforo (0,2 mM de ortofosfato), sendo que algumas estirpes são mais eficientes em utilizar o fósforo estocado, quando em condições de deficiência desse elemento.

Segundo BECK e MUNNS (1984), essa capacidade de armazenamento de fósforo pode ser correlacionada com uma subsequente colonização do solo ou da rizosfera e pode



também estar relacionada com a efetividade das estirpes em plantas crescendo em solos deficientes em fósforo.

O transporte de fosfato para as células bacterianas pode ser efetuado por mecanismos constitutivos e repressivos. Segundo ROSEMBERG et alii (1977) e WILLSKY e MALAMY (1980), dois sistemas principais de transporte de fosfato em Escherichia coli foram detectados: o sistema "PIT" (Sistema de baixa afinidade para transporte de Pi) e "PST" (Sistema específico para transporte de fosfato). O sistema "PIT" é constitutivo e dirigido pela força protomotora e o sistema "PST", que, embora sempre presente, é desreprimido por limitação de fósforo, sendo dependente dos genes que codificam para a síntese de uma proteína envolvida no processo, a fosfatase alcalina (ROSEMBERG et alii, 1977). LIM (1988) relatou a possibilidade da existência dos dois sistemas de transporte de fosfato em rizóbio.

A fosfatase alcalina (fosfohidrolase monoester ortofosfórica E.C.3.1.3.1) é uma das enzimas mais importantes do metabolismo de fósforo em Escherichia coli (TORRIANI, 1960), Bacillus subtilis, Serratia marcescens, Bacteroides ruminicola e Rhizobium leguminosarum (SINGH e SINGH, 1984). Segundo ROCHE (1950), as plantas apresentam reduzida ou nenhuma atividade de fosfatase alcalina. Em estudos posteriores diversos autores (JUMA e TABATABAI, 1988; NAKAS et alii, 1987; TARAFDAR e CLAASSEN, 1988) não detectaram atividade dessa enzima nas plantas por eles estudadas. CHHONKAR e TARAFDAR (1981) verificaram baixa atividade de fosfatase alcalina em solo esterilizado em comparação com solo não esterilizado, não sendo detectada

atividade dessa enzima em exudatos de plantas cultivadas em condições assépticas.

A atividade da fosfatase alcalina em vários grupos de bactérias incluindo R. leguminosarum é verificada quando o meio de cultura torna-se deficiente em fósforo (GLENN e DILWORTH, 1979; SINGH e SINGH, 1984; WILLSKY e MALAMY, 1980). SINGH e SINGH (1984) relataram uma baixa atividade (7,5 nmol/min/mg proteína) dessa enzima em estirpes de B. japonicum em comparação com as diferentes espécies de Rhizobium estudadas, mesmo quando essas estirpes cresciam em meios de cultivo com baixos níveis (0,02 mM) de fósforo.

Embora seja sugerido que a concentração e o armazenamento de fósforo da célula bacteriana sejam de grande importância na regulação da atividade da fosfatase alcalina, WILLSKY e MALAMY (1976) sugeriram que a concentração interna de fósforo pode não estar diretamente relacionada com a desrepressão da fosfatase alcalina. Mesmo em altas concentrações de fósforo no meio, uma deficiência de pirimidina pode também causar esta desrepressão.

SMART et alii (1984a) estudando o transporte de fosfato e a atividade da fosfatase alcalina em rizóbio, verificaram que as estirpes de Rhizobium apresentavam maior atividade de fosfatase alcalina sob condições de baixo nível de fósforo (50  $\mu$ M). Os autores verificaram ainda que, no caso da estirpe de Bradyrhizobium CB 756, a atividade de fosfatase alcalina foi menor do que aqueles valores observados em estirpes de Rhizobium.

SMART et alii (1984a,b) verificaram que a nutrição de fósforo em bacteróides de feijão (Vigna) parece ser

independente daquela da planta. Foi verificado que os bacteróides possuíam quantidades elevadas de fósforo armazenado e a atividade de fosfatase desses bacteróides não variou com a quantidade de fósforo na planta nas condições avaliadas. Os autores concluíram, então, que a presença e atividade de fosfatase alcalina pode ser resultado de fatores independentes da concentração de fosfato no nódulo ou no bacteróide.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

A maioria dos estudos sobre atividade de fosfatase alcalina que até então vêm sendo feitos são com rizóbios em vida livre, sendo ainda escassos os estudos em bacteróides. O estudo do comportamento do sistema simbiótico rizóbio-leguminosa sob diferentes níveis de fósforo pode resultar em uma melhor compreensão da nutrição fosfatada do rizóbio, quando associado à planta hospedeira.

Como substrato de crescimento das plantas, utilizamos areia lavada e esterilizada, com a adição de 0,5 g de fósforo por litro de solução nutritiva. As plantas foram cultivadas em vasos de 100 ml, com uma única planta por vaso. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 70%. As plantas foram regadas diariamente com a solução nutritiva. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 70%. As plantas foram regadas diariamente com a solução nutritiva. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 70%. As plantas foram regadas diariamente com a solução nutritiva.

### 3. MATERIAL E METODOS

A fase experimental do trabalho foi executada em casa de vegetação e no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa.

Como substrato de crescimento das plantas, utilizou-se amostra de solo da camada superficial de 0 a 20 cm de profundidade de um Latossolo Vermelho-Amarelo álico (LVa) de Viçosa, MG, coletada em uma encosta sob vegetação natural e apresentando baixa disponibilidade de nutrientes, inclusive fósforo (Quadro 1). Essa amostra de solo foi inicialmente preparada pela passagem, após secagem e homogeneização, em peneira de 4 mm para uniformização. O pH foi ajustado para 5,5 por adição de 900 g de calcário dolomítico PRNT 83% a 400 Kg de solo. Adicionou-se água destilada para elevar o teor de umidade do solo a 80% da capacidade de retenção determinada pelo método do "funil". O solo foi incubado em caixa de amianto tampada por um período de 20 dias, novamente secado ao ar e esterilizado

QUADRO 1 - Características Químicas e Físicas de uma Amostra da Camada Superficial, 0 a 20 cm, de um Latossolo Vermelho-Amarelo Álico de Viçosa-MG

Características	Resultados
PH em H <sub>2</sub> O (1:2,5)	4,6
Al <sup>3+</sup> (meq/100 cm <sup>3</sup> de solo) <sup>1/</sup>	1,3
Ca <sup>2+</sup> (meq/100 cm <sup>3</sup> de solo) <sup>1/</sup>	0,1
Mg <sup>2+</sup> (meq/100 cm <sup>3</sup> de solo) <sup>1/</sup>	0,0
P (ppm) <sup>2/</sup>	1,4
K (ppm) <sup>2/</sup>	16,0
Saturação de Al (%)	87,8
Carbono Orgânico (%) <sup>3/</sup>	1,95
Areia Grossa (%) <sup>4/</sup>	16,0
Areia Fina (%) <sup>4/</sup>	12,0
Silte (%) <sup>4/</sup>	8,0
Argila (%) <sup>4/</sup>	64,0
Classificação Textural	muito argiloso
Capacidade de Retenção (%)	51,0

1/ Extrator: KCl 1N (VETORI, 1969).

2/ Extrator: Mehlich-1 (VETORI, 1969).

3/ Método: Walkley-Black (JACKSON, 1958a).

4/ Método: Pipeta (EMBRAPA, 1979).

com brometo de metila, na dosagem de  $20 \text{ cm}^3/\text{m}^3$  de solo, por duas vezes com intervalo de 96 horas, a fim de eliminar os possíveis rizóbios ali presentes. Amostras de 1,6 Kg desse solo foram acondicionadas em sacos de polietileno e colocadas em vasos. Ao conteúdo de cada vaso, misturou-se superfosfato triplo, com 43,6% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e 13% de Ca, previamente passado em peneira de 0,24 mm e secado a  $40^\circ\text{C}$  por 24 horas em doses correspondentes a 50, 100, 200 e 400 ppm de P. O nível de cálcio foi mantido constante pela adição de  $\text{CaCO}_3$ , tomando-se como base o tratamento em que se adicionou a maior quantidade de fósforo. Após a homogeneização, as amostras de solo foram recolocadas nos vasos e o teor de umidade foi novamente elevado a 80% da capacidade de retenção pela adição de água destilada. Os vasos foram, então, incubados por 15 dias à temperatura ambiente. Uma adubação básica com macro e micro nutrientes foi efetuada, adicionando-se por Kg de solo 34,5 mg de S e 84 mg de K ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ), 0,813 mg de B ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), 4,0 mg de Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 1,329 mg de Cu ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) e 0,15 mg de Mo ( $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) em solução aquosa, imediatamente antes do plantio.

Dois experimentos, com feijão e soja, foram conduzidos simultaneamente em casa de vegetação no período de novembro de 1988 a janeiro de 1989. Os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial (4x5) constituído de quatro doses de fósforo e inoculação com quatro estirpes de rizóbio e um tratamento sem inoculação, sendo esses tratamentos dispostos com um delineamento de blocos ao acaso, com cinco repetições.

Foram utilizadas quatro estirpes de Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli e quatro de Bradyrhizobium japonicum provenientes da Coleção de Estirpes do Centro Nacional de Pesquisa em Biologia do Solo da EMBRAPA (CNPBS), Itaguaí-RJ (Quadro 2).

As estirpes cresceram em frascos erlenmeyer contendo 500 ml de meio extrato de levedura-manitol (VINCENT, 1970), pH 6,8, à temperatura de 28°C até serem obtidas aproximadamente  $10^8$  células por ml, correspondendo à fase de crescimento exponencial, determinada previamente por meio de curva de crescimento.

Sementes de feijão variedade 'Negro Argel' e de soja variedade 'Uberaba', foram embebidas em suspensões contendo aproximadamente  $10^8$  células por ml de cada uma das quatro estirpes de R leguminosarum bv. phaseoli e das quatro de B japonicum, respectivamente. Para a sementeira, foram colocadas em cada vaso oito sementes previamente inoculadas com as estirpes. Sobre cada semente adicionaram-se, ainda, 2,0 ml da suspensão de células de rizóbio.

O desbaste foi feito aos oito dias após a sementeira, deixando-se duas plantas por vaso. Durante todo período de cultivo os vasos foram irrigados diariamente com água destilada para manter o teor de umidade do solo próximo a 80% da capacidade de retenção.

Após 45 dias da sementeira, as plantas foram colhidas, separando-se as partes aéreas e as raízes. Os sistemas radiculares foram lavados e os nódulos destacados e armazenados em sacos de polietileno para serem posteriormente pesados.

QUADRO 2 - Código e Origem das Estirpes de Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli e Bradyrhizobium japonicum Utilizadas

Estirpe	Código CNPBS	Código Original	Origem
<u>R. leguminosarum</u> bv. <u>phaseoli</u>	Br 266	CENA CO 5 II	Piracicaba/SP <sup>1/</sup>
	Br 10008	H-20	CPAC/DF <sup>1/</sup>
	Br 322	CIAT 899	CIAT-Colômbia <sup>1/</sup>
		SEMIA 4077	
	Br 281	SEMIA 487	IPAGRO-RS <sup>1/</sup>
<u>B. japonicum</u>	Br 29	29 w	IPAGRO-RS <sup>2/</sup>
		SEMIA 5019	
		USDA 309	
	Br 52-a	SEMIA 5032	Florida/EUA <sup>2/</sup>
		USDA 110	
	Br 33	CB 1809	Maryland/EUA <sup>2/</sup>
		SEMIA 586	
	USDA 136		
	Br 96	SEMIA 587	IPAGRO/RS <sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> LUCAS (1986).

<sup>2/</sup> KEYSER e GRIFFIN (1987).

CNPBS- Centro Nacional de Pesquisa em Biologia do Solo.



Para a extração dos bacteróides dos nódulos, utilizou-se metodologia citada por CASSINI (1988) pela qual os nódulos são pesados, esterilizados superficialmente com hipoclorito de sódio a 3% (peso/volume) por 10 minutos, seguindo-se cinco lavagens em água destilada esterilizada e maceração em gral de porcelana contendo polivinilpirrolidone (PVP) a uma relação de 1:3 (PVP:nódulo) para remoção dos compostos fenólicos. O macerado foi, então, diluído em tampão MUB (Modified Universal Buffer, PAGE et alii, 1982) pH 11,0 e filtrado em gaze dupla esterilizada para retirada dos restos de células do nódulo. O filtrado foi centrifugado a 30xg por 10 minutos, sendo o precipitado descartado e o sobrenadante novamente centrifugado a 200xg por 20 minutos. Após a centrifugação, o precipitado foi ressuspenso em 10 ml de tampão MUB pH 11,0.

No extrato contendo os bacteróides, foi determinada a atividade de fosfatase alcalina pelo método de PAGE et alii (1982) modificado. A membrana desses bacteróides foi permeabilizada para facilitar a determinação da atividade da enzima. Para a permeabilização, os bacteróides sofreram um tratamento com éter etílico na proporção de 0,1 ml de éter para 10 ml de extrato, sendo essa mistura colocada em banho-maria a 37°C por trinta minutos. Em seguida, adicionou-se 0,5 ml desse extrato contendo os bacteróides permeabilizados em tubos contendo 2,5 ml de tampão MUB pH 11,0 e paranitrofenil-fosfato 0,025M. Os tubos foram incubados a 37°C em banho-maria por trinta minutos e a reação foi paralisada pela adição de 2,0 ml de NaOH 1,0N. A formação do paranitrofenol foi avaliada em espectrofotômetro

a 410 nm. A atividade específica da enzima fosfatase alcalina foi expressa em  $\mu$ moles de substrato consumido por mg de proteína por minuto.

As determinações das concentrações de proteínas no extrato contendo os bacteróides foram feitas de acordo com método proposto por LOWRY *et alii* (1951), usando-se como padrão a albumina sérica bovina (BSA).

As partes aéreas e as raízes foram secas em estufa de ventilação forçada a  $72^{\circ}\text{C}$ , até obtenção de peso constante.

Para a determinação de fósforo e nitrogênio, amostras de 100 mg das partes aéreas moídas em moinho tipo Wiley, equipado com peneira de  $0,36$  mm, foram colocadas em tubos de digestão. Acrescentou-se 1,0 ml de ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) 70%, 2 gotas de querosene, 0,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% a cada tubo com amostra, seguindo-se de processamento em bloco digestor a  $200^{\circ}\text{C}$  por cinco minutos. Em seguida, após resfriamento à temperatura ambiente, adicionou-se a cada tubo 1,0 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30%, retornando ao bloco digestor por 15 minutos a  $200^{\circ}\text{C}$ , após os quais completou-se o volume de cada tubo para 25 ml com água deionizada. O teor de P foi determinado colorimetricamente pelo método da vitamina C, modificado por BRAGA e DEFELIPO (1974) e o teor de N determinado pelo método do reagente de Nessler (JACKSON, 1958b).

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, sendo as médias dos tratamentos qualitativos comparadas pelo Teste de Tukey e as médias dos tratamentos quantitativos pela análise de regressão.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Experimento com Soja

A análise de variância dos dados mostrou haver diferenças estatísticas significativas na produção de matéria seca da parte aérea entre plantas inoculadas ou não com as estirpes de rizóbio. Diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) também foram observadas para as variáveis peso de nódulos frescos e teor e acumulação de nitrogênio. Portanto, o aumento das doses de fósforo no solo influenciou a resposta das plantas inoculadas com as diferentes estirpes de rizóbio em termos de produção de matéria seca da parte aérea, peso de nódulos frescos e teor e acumulação de nitrogênio na parte aérea (Quadro 3).

As maiores produções de matéria seca da parte aérea das plantas foram obtidas para as plantas cultivadas com a dose de 400 ppm de fósforo no solo (Quadro 4). CASSMAN et alii (1981) também verificaram aumentos na produção de matéria seca da soja, inoculada com estirpes de rizóbio,

QUADRO 3 - Análise de Variância dos Dados de Produção de Matéria Seca da Parte Aérea e Raiz, Peso de Nódulos Frescos, Atividade Específica de Fosfatase Alcalina, Teor e Acumulação de Nitrogênio e Fósforo na Parte Aérea de Plantas de Soja 'Uberaba', Inoculadas ou Não com Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e Cultivadas Sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias

Quadrados Médios

Causa de Variação	G.L.	Matéria Seca		Peso de Nódulos Frescos	Atividade Específica Fosfatase Alcalina	Nitrogênio		Fósforo	
		Parte Aérea	Raiz			Teor	Acumulação	Teor	Acumulação
Bloco	4	2,7284	1,0429	0,1835	0,0042	0,0073	403,7224	0,0007	7,7341
Estirpe	4	10,4077**	0,3432ns	3,9091**	0,0012ns	0,0018**	827,7920*	0,0003ns	2,8950ns
Fósforo	3	604,2876**	38,4966**	100,7287**	0,0044**	0,0322*	55397,0200**	0,0312**	1221,6500**
Estirpe x Fósforo	12	4,3470**	0,2231ns	0,7538*	0,0024ns	0,0293**	633,6384**	0,0004ns	5,9072ns
Erro	76	1,7480	0,2529	0,3667	0,0014	0,0114	273,3779	0,0003	4,3114
C.V. (%)		16,54	16,10	27,08	18,72	12,04	22,91	24,56	31,42

\* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

\*\* Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

ns Não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

QUADRO 4 - Produção de Matéria Seca da Parte Aérea e Peso de Nódulos Frescos de Plantas de Soja 'Uberaba', Inoculadas ou Não com Estirpes de Bradyrhizobium japonicum e Cultivadas Sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias. Médias de Cinco Repetições

Dose de Fósforo (mg/Kg solo)	Matéria Seca Parte Aérea					Peso de Nódulos Frescos				
	Br29	Br52-a	Br33	Br96	Test.	Br29	Br52-a	Br33	Br96	Test
	g/vaso									
50	3,01d	3,04d	3,82d	3,27d	2,93d	0,64d	0,34d	0,60d	0,60d	0,40d
100	4,72c	4,21c	5,53c	5,16c	5,06c	0,93c	0,61c	1,02c	1,33c	0,98c
200	9,50bAB	9,28bAB	11,42bA	8,33bB	9,90bAB	2,58bB	2,00bC	2,03bBC	3,30bA	2,45bBC
400	14,69aAB	15,15aAB	15,97aA	13,94aBC	11,57aC	5,28aB	3,96aC	4,45aBC	6,40aA	4,79aBC

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente a 1% de probabilidade, pelo Teste F da Análise de Regressão (Quadro 2A).

proporcionalmente aos aumentos dos níveis de fósforo no solo. Segundo MULLEN *et alii* (1988), o aumento da disponibilidade de nutrientes para a soja resulta em maior produção de matéria seca da planta e essa resposta está diretamente relacionada com a eficiência das estirpes no processo de fixação simbiótica do nitrogênio.

As respostas das plantas inoculadas com as diferentes estirpes às doses de fósforo aos diferentes parâmetros avaliados (Quadro 1A) ocorreram nas doses mais elevadas de fósforo. Possivelmente, nessas condições, essas estirpes expressaram seu potencial máximo de fixação do nitrogênio, em condições não limitantes de fósforo. Entretanto, o teor de nitrogênio das plantas inoculadas com as diferentes estirpes variou significativamente ( $P < 0,01$ )

nas doses abaixo de 200 ppm de fósforo (Quadro 5), provavelmente em razão do efeito de diluição (JARREL e BEVEELY, 1981) ocorrido nas maiores doses, em que se verificou aumento significativo ( $P<0,01$ ) na produção de matéria seca da parte aérea.

As plantas inoculadas com a estirpe de *B japonicum* Br 96 apresentaram valores mais elevados de peso de nódulos frescos (Quadro 4). Porém, isto não se refletiu em aumento na produção de matéria seca da parte aérea, pois os valores obtidos para aquele tratamento não diferiram significativamente ( $P<0,01$ ) daqueles observados para a testemunha não inoculada. Essas plantas também não apresentaram maior acumulação de nitrogênio (Quadro 5), indicando que maior peso de nódulos pode não significar um aumento correspondente na eficiência de fixação de nitrogênio, conforme já relatado por MUCHOVEJ (1980).

O aumento da dose de fósforo aplicado ao solo proporcionou um aumento da matéria seca da raiz e teor e acumulação de fósforo (Quadro 6). A atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos dessas plantas também variou com a dose de fósforo aplicada ao solo (Quadro 6). Entretanto, a interação entre inoculação com as diferentes estirpes de rizóbios e doses de fósforo não foi significativa ( $P<0,01$ ) (Quadro 3), indicando que as respostas dessas plantas à adição de fósforo ao solo foi independente da estirpe inoculada em termos de produção de matéria seca da raiz, teor e acumulação de fósforo e atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos dessas plantas.

QUADRO 5 - Teor e Acumulação de Nitrogênio da Parte Aérea de Plantas de Soja 'Uberaba', Inoculadas ou Não com Estirpes de Bradyrhizobium japonicum e Cultivadas Sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias. Médias de Cinco Repetições

Dose de Fósforo (mgP/Kg de solo)	Nitrogênio									
	Teor					Acumulação				
	Br29	Br52-a	Br33	Br96	Test.	Br29	Br52-a	Br33	Br96	Test.
	X					mg/Vaso				
50	0,81aAB	0,94aA	0,95aA	0,73dB	0,92aA	24,05d	28,86d	36,78d	24,00d	27,07d
100	0,85aA	0,95aA	0,82aA	0,71cB	0,89aA	40,20c	40,34c	45,55c	37,19c	45,47c
200	0,85aBC	0,97aAB	0,86aABC	0,74bC	1,04aA	80,90bB	89,16bB	97,99bAB	61,82bB	98,27bA
400	0,97a	0,97a	0,86a	0,98a	0,85a	142,98aA	147,31aA	139,23aA	130,16aA	103,73aB

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem, significativamente, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente a 1% de probabilidade, pelo Teste F da Análise de Regressão (Quadro 3A).

Não foi observada correlação significativa ( $P < 0,01$ ) entre atividade de fosfatase alcalina e o teor ( $r = 0,015$ ) e acúmulo ( $r = 0,067$ ) de fósforo na parte aérea das plantas. Esses resultados se assemelham aos obtidos por SMART *et alii* (1984a) que observaram independência da atividade de fosfatase alcalina em bacteróides de nódulos de caupi (Vigna sp.) inoculado com Bradyrhizobium com o nível de fósforo na planta, conforme também observado nesse trabalho (Quadro 6).

O fósforo é um elemento de grande importância para o processo de fixação biológica do nitrogênio. Segundo SINGLETON *et alii* (1985), a diminuição das doses de fósforo no solo pode acarretar a diminuição da eficiência da fixação simbiótica do nitrogênio, podendo ainda determinar sintomas

QUADRO 6 - Produção de Matéria Seca da Raiz, Teor e Acumulação de Fósforo na Parte Aérea e Atividade Específica de Fosfatase Alcalina dos Bacteróides Extraídos de Plantas de Soja 'Uberaba', Inoculadas ou Não com Estirpes de Bradyrhizobium japonicum e Cultivadas Sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias. Médias de Vinte e Cinco Observações

Dose de Fósforo (mg P/Kg solo)	Matéria Seca da Raiz (g/vaso)	Fósforo		Atividade Específica de Fosfatase Alcalina <sup>1/</sup>
		Teor (%)	Acumulação (mg/vaso)	
50	1,7776d	0,0425d	1,3744d	0,1832d
100	2,3688c	0,0464c	2,2779c	0,2096b
200	3,8604b	0,0656b	6,3268b	0,2123a
400	4,4260a	0,1191a	16,5945a	0,2064c

1/  $\mu$ moles de paranitrofenol/mg de proteína/min.

As médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente a 1% de probabilidade, pelo Teste F da Análise de Regressão (Quadro 1A).

de deficiência de nitrogênio na planta, reduzindo conseqüentemente a produção.

Os resultados apresentados indicam que uma maior disponibilidade de fósforo no solo pode levar a uma resposta de estímulo à produção de matéria seca, peso de nódulos frescos e acúmulo de nitrogênio e fósforo na parte aérea de plantas de soja. Entretanto, podem haver variações entre respostas das estirpes de rizóbios utilizadas. O aumento da disponibilidade de fósforo no solo também proporcionou aumento da atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides dos nódulos dessas plantas. Esse aumento ocorreu independentemente das estirpes inoculadas e sem apresentar correlação significativa ( $P < 0,01$ ) com a acumulação e o teor de fósforo na parte aérea da planta.



#### 4.2. Experimento com Feijão

No Quadro 7 encontra-se a análise de variância dos dados de produção das plantas de feijão inoculadas com as diferentes estirpes de rizóbio, sob diferentes doses de fósforo, bem como a análise dos dados de atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos dessas plantas. Essa análise mostrou haver diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) na produção de matéria seca da parte aérea, acumulação de nitrogênio e teor e acumulação de fósforo da parte aérea entre plantas inoculadas com as estirpes de rizóbio.

As plantas de feijão inoculadas com as estirpes de rizóbio apresentaram aumento significativo ( $P < 0,01$ ) na produção de matéria seca da parte aérea, em resposta às doses de fósforo adicionados ao solo (Quadro 8). No caso do feijão, essa resposta foi dependente das estirpes, sendo que as plantas inoculadas com a estirpe Br 266 foram as que apresentaram as menores produções de matéria seca da parte aérea e acumulação de nitrogênio (Quadro 8), com valores inferiores aos apresentados pela testemunha não inoculada.

O teor e a acumulação de fósforo (Quadro 9) das plantas inoculadas com as diferentes estirpes variou significativamente ( $P < 0,01$ ) com a dose de 400 ppm de fósforo aplicada ao solo, sendo as plantas inoculadas com a estirpe Br 266 as que apresentaram as menores médias.

Pode-se verificar que a produção de matéria seca da parte aérea do feijão (Quadro 8) foi inferior ao da soja (Quadro 4). Isto refletiu em uma menor relação parte aérea - raiz do feijão, quando comparado com a soja (Quadro 10),

QUADRO 7 - Análise de Variância dos Dados de Produção de Matéria Seca da Parte Aérea e Raiz, Peso de Nódulos Frescos, Atividade Específica de Fosfatase Alcalina, Teor e Acumulação de Nitrogênio e Fósforo na Parte Aérea de Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e Cultivadas sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias

Quadrados Médios

Causa de Variação	G.L.	Matéria Seca		Raiz	Peso de Nódulos Frescos	Atividade Específica Fosfatase Alcalina	Nitrogênio		Fósforo	
		Parte Aérea	Teor				Teor	Acumulação	Teor	Acumulação
Bloco	4	0,0763	20,3775		0,1019	0,0128	0,0266	141,2073	0,0007	0,9856
Estirpe	4	4,4806ns	6,9345ns		0,3605ns	0,0205ns	0,0866ns	584,8899*	0,0023**	2,4025ns
Fósforo	3	228,4025**	47,8633**		14,0483**	0,5837**	0,6586**	17521,5400**	0,0697**	976,8364**
Estirpe * Fósforo	12	5,6897**	2,8036ns		0,1331ns	0,0310ns	0,0165ns	420,4211**	0,0015**	10,0631*
Erro	76	2,1029	3,4664		0,1038	0,0185	0,0332	163,5078	0,0006	5,1272
C.V. (%)		36,54	59,53		39,64	41,50	20,70	36,83	22,49	43,13

\* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo Teste F.  
 \*\* Significativo, a 1% de probabilidade, pelo Teste F.  
 ns Não-significativo a 5% de probabilidade, pelo Teste F.

QUADRO 8 - Produção de Matéria Seca e Acumulação de Nitrogênio das Partes Aéreas de Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli e Cultivadas Sob Diferentes Níveis de Fósforo por 45 Dias. Média de Cinco Repetições

Dose de Fósforo (mgP/Kg de solo)	Matéria Seca Parte Aérea					Nitrogênio Acumulação				
	Br266	Br10008	Br322	Br281	Test.	Br266	Br10008	Br322	Br281	Test.
	g/Vaso					mg/vaso				
50	1,28d	1,41d	1,18d	0,98d	1,37d	10,51d	13,29d	12,28d	11,48d	15,60d
100	2,92c	2,20c	1,95c	2,01c	2,17c	18,71c	18,04c	16,06c	13,13c	17,45c
200	4,90b	4,84b	4,76b	2,65b	4,23b	31,86b	37,35b	36,94b	20,31b	32,14b
400	5,17aB	9,70aA	7,83aA	8,14aA	9,59aA	40,06aB	79,99aA	76,97aA	71,97aA	84,39aA

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, nas linhas, não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente a 1% de probabilidade, pelo Teste F da Análise de Regressão (Quadro 6A).

QUADRO 9 - Relação Parte Aérea/Raiz de Plantas de Soja  
'Luzerna' e Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou  
Não com Estirpes de *Rhizobium* e Cultivadas em  
Diferentes Doses de Fósforo. Médias de Cinco  
Repetições

QUADRO 9 - Teor e Acumulação de Fósforo de Partes Aéreas de  
Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou  
Não com Estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv.  
*phaseoli* e Cultivadas Sob Diferentes Doses de  
Fósforo por 45 Dias. Médias de Cinco  
Repetições

Dose de Fósforo (mgP/Kg de solo)	Fósforo									
	Teor					Acumulação				
	Br266	Br10008	Br322	Br281	Test.	Br266	Br10008	Br322	Br281	Test
	%					mg/Vaso				
50	0,06d	0,06d	0,06d	0,07d	0,08d	0,78d	0,88d	0,78d	0,77d	1,09d
100	0,07c	0,07c	0,09c	0,08c	0,06c	2,13c	1,55c	1,64c	1,42c	1,46c
200	0,13b	0,10b	0,08b	0,08b	0,07b	6,15b	4,72b	4,13b	2,21b	3,18b
400	0,22aA	0,16aB	0,18aB	0,18aB	0,16aB	11,01aB	15,75aA	14,05aAB	15,05aA	16,06aA

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente a 1% de probabilidade, pelo Teste F da Análise de Regressão (Quadro 7A).

QUADRO 10 - Relação Parte Aérea/Raiz de Plantas de Soja 'Uberaba' e Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de Rizóbio e Cultivadas em Diferentes Doses de Fósforo. Médias de Cinco Repetições

Dose de Fósforo (mgP/Kg de solo)	Soja					Feijão				
	Estirpes <i>R. japonicum</i>					Estirpes <i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>				
	Br29	Br52-a	Br33	Br96	Test.	Br266	Br10008	Br322	Br281	Test.
50	1,73	1,64	1,93	1,89	1,84	0,73	0,70	0,61	0,72	0,79
100	2,04	2,02	2,36	2,01	1,99	0,86	0,71	0,98	1,15	0,80
200	2,61	2,34	2,66	2,33	2,56	1,22	0,93	1,59	1,66	1,00
400	3,42	3,24	3,38	3,16	2,69	1,26	1,52	1,49	1,66	2,12

indicando, assim, uma menor disponibilidade de nitrogênio fornecido por meio da fixação biológica para as plantas de feijão. O sistema *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* - feijão tem sido considerado menos eficiente que o sistema *R. japonicum* - soja (SAITO e RUSCHEL, 1980) quanto à fixação de nitrogênio. A eficiência das estirpes de *Rhizobium* (FRANCO e DOBEREINER, 1961) e a estabilidade genética (BARAIBAR *et alii*, 1982; LABANDERA e VINCENT, 1975) são sugeridos, entre outros, como fatores que podem interferir na eficiência em fixar nitrogênio do sistema *Rhizobium* - feijão.

A análise de variância (Quadro 7) dos dados de produção de matéria seca da raiz, peso de nódulos frescos, teor de nitrogênio e atividade de fosfatase alcalina de bacteróides extraídos de plantas de feijão mostraram que a

interação entre inoculação com as estirpes de rizóbios e doses de fósforo não foi significativa ( $P < 0,01$ ). Isto indica que as respostas dessas plantas à aplicação de doses de fósforo ao solo foram independentes da estirpe inoculada em termos das referidas variáveis.

A atividade de fosfatase alcalina nos bacteróides extraídos de nódulos de feijão foi mais elevada (Quadro 11) do que aquelas encontradas nos nódulos de soja (Quadro 6). Foi observado também que esta atividade aumentou proporcionalmente com as doses de fósforo aplicadas ao solo, apresentando correlação significativa ( $P < 0,01$ ) com o teor ( $r = 0,349$ ) e acumulação ( $r = 0,471$ ) de fósforo na parte aérea da planta. Isso sugere a existência de um mecanismo diferencial na utilização, pelo bacteróide, do fósforo fornecido pela planta no caso do sistema Rhizobium - feijão quando comparado com o sistema Bradyrhizobium - soja.

De modo geral, quando avaliada em células livres de Rhizobium, observa-se a atividade de fosfatase alcalina quando o meio de cultura torna-se deficiente em fósforo (GLENN e DILWORTH, 1979; SMART *et alii*, 1984a; SINGH e SINGH, 1984; WILLSKY e MALAMY, 1980). No presente trabalho, quando se avaliou esta atividade em bacteróides, observou-se um aumento dessa atividade com o aumento das doses de fósforo no solo. Portanto, a atividade de fosfatase alcalina em bacteróides difere daquela atividade relatada em células livres de rizóbio.

As diferenças na atividade de fosfatase alcalina em extratos de bacteróides obtidas no presente trabalho, quando

QUADRO 11 - Produção de Matéria Seca da Raiz, Peso de Nódulos Frescos, Teor de Nitrogênio nas Partes Aéreas e Atividade Específica de Fosfatase Alcalina em Bacteróides Extraídos de Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli e Cultivadas a Diferentes Doses de Fósforo. Médias de Vinte e Cinco Observações

Dose de Fósforo (mg P/Kg de solo)	Matéria Seca da Raiz (g/vaso)	Peso Nódulos Frescos (g/vaso)	Teor de Nitrogênio na Parte Aérea (%)	Atividade Específica de Fosfatase Alcalina <sup>1/</sup>
50	1,7484d	0,0404d	0,7450d	0,1171d
100	2,5896c	0,3936c	0,7963c	0,3159c
200	3,1484b	1,0896b	0,8727b	0,4237b
400	5,0128a	1,7276a	1,1119a	0,4556a

<sup>1/</sup>  $\mu$ moles de paranitrofenol/mg de proteína/min.

As médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente a 1% de probabilidade, pelo Teste F da Análise de Regressão (Quadro 8A).

comparadas com os resultados de literatura ( SMART et alii, 1984a e SINGH e SINGH, 1984) para Bradyrhizobium spp. e Rhizobium spp. em vida livre, indicam que estudos adicionais devem ser realizados comparando os dois sistemas, com o objetivo de se obter uma melhor compreensão global do metabolismo de fósforo em rizóbio.

Os dados obtidos neste trabalho permitem concluir que o aumento das doses de fósforo no solo proporcionou uma maior produtividade, avaliada em termos de massa seca da planta e acumulação de nitrogênio, tanto em soja quanto em feijão e que a atividade da enzima fosfatase alcalina,

avaliada nas condições experimentais descritas, variou mais com as doses de fósforo no solo. Além disso, essa atividade de fosfatase alcalina foi diferente para os sistemas Rhizobium - feijão e Bradyrhizobium - soja.

### 3. RESUMO E CONCLUSões

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, objetivando avaliar os efeitos da aplicação de doses de fósforo em um Latossolo Vermelho-Amarelo álico da região de Vicosa - MG sobre a atividade de fosfatase alcalina das bactérias extraídas dos nódulos radiculares de plantas de soja inoculadas com Bradyrhizobium japonicum e plantas de feijão inoculadas com Rhizobium lotum.

No experimento com soja, utilizou-se a variedade "Liberty", inoculada com B. japonicum, isolados Br 29, Br 52a, Br 22 e Br 9a, em vasos com solo, contendo quatro doses de fósforo (0, 100, 200, 400 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> /kg solo). Após 45 dias após o plantio, efetuou-se a coleta do material vegetal, e a seguir procedeu-se à determinação do peso de nódulos fixados e da atividade de fosfatase alcalina das bactérias extraídas dos nódulos, no caso de plantas com a presença de nódulos e fósforo na parte aérea e peso de matéria seca de raiz.



## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, objetivando avaliar os efeitos da aplicação de doses de fósforo em um Latossolo Vermelho-Amarelo álico da região de Viçosa - MG sobre a atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos dos nódulos radiculares de plantas de soja inoculadas com Bradyrhizobium japonicum e plantas de feijão inoculadas com Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli.

No experimento com soja, utilizou-se a variedade 'Uberaba', inoculada com B. japonicum, estirpes Br 29, Br 52a, Br 33 e Br 96, em vasos com solo, contendo quatro doses de fósforo (50, 100, 200, 400 mg P/kg solo). Aos 45 dias após o plantio, efetuou-se a coleta do material vegetal, procedendo-se à determinação do peso de nódulos frescos e da atividade de fosfatase alcalina dos bacteróides extraídos desses nódulos, do peso da matéria seca e conteúdo de nitrogênio e fósforo da parte aérea e peso da matéria seca da raiz.

No experimento com feijão, conduzido de modo semelhante ao experimento com soja, utilizou-se a variedade 'Negro Argel' inoculada com estirpes de R. leguminosarum bv. phaseoli Br 266, Br 10008, Br 322 e Br 281. Aos 45 dias após o plantio, efetuou-se a coleta do material vegetal e procederam-se determinações conforme as efetuadas para a soja.

De acordo com os dados obtidos, pode-se concluir que:

- A atividade de fosfatase alcalina avaliada nos bacteróides extraídos dos nódulos de soja e feijão variou com os doses de fósforo no solo.
- A atividade de fosfatase alcalina em bacteróides de nódulos de feijão (R. leguminosarum bv. phaseoli) foi mais elevada do que a atividade observada para os bacteróides de nódulos de soja (B. japonicum).
- A resposta às doses de fósforo utilizadas no solo foi positiva para matéria seca da parte aérea e raiz e o peso dos nódulos frescos, tanto para a soja, como para o feijão.
- O conteúdo de nitrogênio nas plantas de feijão e soja foi dependente da concentração de fósforo no solo.

## BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA

1. BARRIBAR, A., LABANDERA, C., MILIAN, A. Caracteres culturales e simbióticos de cepas de *Rhizobium* de interés comercial. In: RECAR, 11, Lima, Perú, 1982. ARAIS, Lima, 1982. n.p.
2. ZATES, T.E. Factors affecting critical nutrient concentration in their evaluation: a review. *Soil Science*, 115-130, 1971.
3. BECK, D.P. & HUMPHS, D.W. Phosphate nutrition of *Rhizobium* spp. *Australian and Environmental Microbiology*, 27, 278-282, 1984.
4. REICHEINERFALVAY, B.J. & YODER, J.F. The Glaring - Gloran *Rhizobium* symbiosis. I. Phosphorus effects on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. *Physiologia Plantarum*, 32, 141-145, 1981.
5. BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. Determinación espectrofotométrica de fósforo en extractos de sales e material vegetal. *Revista Cereales*, 21, 73-85, 1974.
6. CASSINI, S.T.A. Variation in symbiotic effectiveness of *Bradyrhizobium japonicum* sp. through plant passage in peanut (*Arachis hypogaea* L.). Raleigh, North Carolina State University, 1984. 77p. (Tese Doutorado).
7. CASSMAN, K.G., HUMPHS, D.W., BECK, D.P. Phosphorus nutrition of *Rhizobium japonicum*: strain differences in phosphate stress and utilization. *Soil Science Society of America Journal*, 43, 517-520, 1981.
8. CASSMAN, K.G., WHITNEY, A.S., STOCKINGER, K.R. Root growth and dry matter distribution of soybeans as affected by phosphorus stress, nodulation and nitrogen source. *Crop Science*, 22, 237-244, 1982.

## BIBLIOGRAFIA

1. BARAIBAR, A.; LABANDERA, C.; MILIAN, A. Caracteres culturales e simbióticos de cepas de Rhizobium de interés comercial. In: RELAR, 11, Lima, Peru, 1982. Anais ... Lima, 1982. n.p.
2. BATES, T.E. Factors affecting critical nutrient concentration in plants and their evaluation; a review. Soil Science, 112: 116-130, 1971.
3. BECK, D.P. & MUNNS, D.N. Phosphate nutrition of Rhizobium spp. Applied and Environmental Microbiology, 47: 278-282, 1984.
4. BETHELENFALVAY, G.J. & YODER, J.F. The Glycine - Glomus - Rhizobium symbiosis. I. Phosphorus effects on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. Physiologia Plantarum, 52: 141-145, 1981.
5. BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e material vegetal. Revista Ceres, 21: 73-85, 1974.
6. CASSINI, S. T.A. Variation in symbiotic effectiveness of Bradyrhizobium japonicum sp. Through plant passage in peanut (Arachis hypogea L.). Raleigh, North Carolina State University, 1988. 77p. (Tese Doutorado).
7. CASSMAN, K.G.; MUNNS, D.N.; BECK, D.P. Phosphorus nutrition of Rhizobium japonicum: strain differences in phosphate storage and utilization. Soil Science Society of America Journal, 45: 517-520, 1981.
8. CASSMAN, K.G.; WHITNEY, A.S.; STOCKINGER, K.R. Root growth and dry matter distribution of soybeans as affected by phosphorus stress, nodulation and nitrogen source. Crop Science, 20: 239-244, 1980.

9. CHHONKAR, P.K. & TARAFDAR, J.C. Characteristics and location of phosphatases in soil-plant system. Journal of The Indian Society Soil Science, 29: 215-219, 1981.
10. DIXON, R.O.D. & WHEELER, C.T. Nitrogen fixation in plants. New York, USA, Chapman and Hall, 1986. 157p.
11. EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. Manual de Métodos de Análise do solo. Rio de Janeiro, 1979. n.p.
12. FAO PRODUCTION YEARBOOK. Rome, FAO, 1988. v. 42.
13. FRANCO, A.A. & DOBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com Rhizobium-feijão e influência de diferentes nutrientes. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2: 467-474, 1961.
14. GATES, C.T. Nodule and plant development in the soybean, Glycine max (L.) Merr.: Growth response to nitrogen, phosphorus and sulfur. Australian Journal of Botany, 27: 203-215, 1979.
15. GATES, C.T. & WILSON, J.R. The interaction of nitrogen and phosphorus on the growth nutrient status and nodulation of Stylosanthes humilis H.B.K. (Townsville stylo). Plant and Soil, 41: 325-333, 1974.
16. GLENN, A.R. & DILWORTH, M.J. And examination of Rhizobium leguminosarum for the production of extracellular periplasmatic proteins. Journal of General Microbiology, 112: 405-409, 1979.
17. ISRAEL, D.W. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. Plant Physiology, 84: 835-840, 1987.
18. JACKSON, M.L. Organic matter determination for soil. In: JACKSON, M.L. (ed.) Soil Chemical Analysis. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1958a. p.205-226.
19. JACKSON, M.L. Nitrogen determination for soil and plant tissue. In: JACKSON, M.L. (ed.) Soil Chemical Analysis. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1958b. p.183-204.
20. JAKOBSEN, I. The role of phosphorus in nitrogen fixation by young pea plants (Pisum sativum). Physiologia Plantarum, 64: 190-196, 1985.
21. JARREL, W.M. & BEVEELY, R.B. The dilution effect in plant nutrition studies. Advances in Agronomy, 34:197-224, 1981.
22. JUMA, N.G. & TABATABAI, M.A. Comparison of kinetic and thermodynamic parameters of phosphomonoesterases of soils and corn and soybean roots. Soil Biology & Biochemistry, 20: 533-539, 1988.

23. KEYSER, H.H. & GRIFFIN, R.F. Beltsville Rhizobium Culture Collection Catalog. s.l., U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1987. 79p. (ARS-60)
24. LABANDERA, C. & VINCENT, J.M. Loss of symbiotic capacity in commercially useful strains of Rhizobium trifolii. Journal of Applied Microbiology, 39: 209-211, 1975.
25. LEUNG, K. & BOTTOMLEY, P.J. Influence of phosphate on the growth and nodulation characteristics of Rhizobium trifolii. Applied and Environmental Microbiology, 53: 2098-2105, 1987.
26. LINS, I.D.G.; COX, F.R.; NICHOLAIDES III, J.J. Optimizing phosphorus fertilization rates for soybeans grown on oxisols and associated entisols. Soil Science Society of America Journal, 49: 1457-1460, 1985.
27. LIM, S.T. Phosphate transport in Bradyrhizobium japonicum 311b10. Microbios Letters, 37: 147-151, 1988.
28. LOWRY, O.H.; ROSENBROUG, N.J.; FARR, A.L.; RANDAL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 193: 265-275, 1951.
29. LUCAS, A.D.R. Caracterização e seleção de estirpes de Rhizobium phaseoli para a produção de inoculantes comerciais. Piracicaba, São Paulo, ESALQ, 1986. 169p. (Tese Mestrado).
30. LYND, J.Q.; HANLON, E.A.; ODELL, G.V. Nodulation and nitrogen fixation by arrowleaf clover: effects of phosphorus and potassium. Soil Biology & Biochemistry, 16: 589-594, 1984.
31. MUCHOVEJ, R. M. C. Efeito de níveis de corretivo em diferentes relações Ca:Mg sobre o comportamento da soja (Glycine max (L.) Merrill). Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, 1980. 38p. (Tese Mestrado)
32. MULLEN, M.D.; ISRAEL, D.W.; WOLLUM II, A.G. Effects of Bradyrhizobium japonicum and soybean (Glycine max (L) Merr.) phosphorus nutrition on nodulation and dinitrogen fixation. Applied and Environmental Microbiology, 54: 2387-2392, 1988.
33. NAKAS, J.P.; GOULD, W.D.; KLEIN, D.A. Origin and expression of phosphatase activity in a semi-arid grassland soil. Soil Biological & Biochemistry, 19: 13-18, 1987.
34. PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. Methods of Soil Analysis. Parte-2 Chemical and Microbiological Properties. 2. ed., Madison, Wisconsin, s. ed., 1982. p.903-963.

35. PEREIRA, P.R.G. Estudo da eficiência de fungos micorrízicos vesicular-arbusculares para a soja em amostra de um latossolo. Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, 1986. 72p. (Tese Mestrado).
36. REINSVOLD, R.J. & POPE, P.E. Combined effect of soil nitrogen and phosphorus on nodulation and growth of Robinia pseudoacacia. Canadian Journal of Forest Research, 17: 964-969, 1987.
37. ROBSON, A.D.; O'HARA, G.W.; ABBOTT, L.K. Involvement of phosphorus in nitrogen fixation by subterranean clover, (Trifolium subterraneum L.) Australian Journal of Plant Physiology, 8: 427-436, 1981.
38. ROCHE, J. The enzymes: chemistry and mechanism of action. New York, Academic Press Inc. Publishers, 1950. 724p.
39. ROSEMBERG, H.; GERDES, R.G.; CHEGWIDDEN, K. Two systems for the uptake of phosphorus in Escherichia coli. Journal of Bacteriology, 131: 505-511, 1977.
40. RUSCHEL, A.P.; SAITO, S.M.T.; TULMANN NETTO, A. Eficiência da inoculação de Rhizobium em Phaseolus vulgaris L. I-Efeito de fontes de nitrogênio e cultivares. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 3: 13-17, 1979.
41. SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Capacidade competitiva e de sobrevivência no solo de uma estirpe de Rhizobium phaseoli usada como inoculante. Ciência e Cultura, 32: 888-892, 1980.
42. SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Influência da calagem, adubação fosfatada e micronutrientes na nodulação natural do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.). Resumo apresentado na VII Reunião Latinoamericana do Rhizobium, Cali, Colômbia, 1976. Anais da ESALQ, 35: 545-556, 1978.
43. SINCLAIR, T.C. & DE WIT, C.T. Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. Agronomy Journal, 68: 319-324, 1976.
44. SINGH, A.P. & SINGH, J.B. Alkaline phosphatase tests: a useful aid for the identification of Rhizobium trifolii strains. Journal of General Applied Microbiology, 30: 127-130, 1984.
45. SINGLETON, P.W.; ABDEL MAGID, H.M.; TAVARES, J.W. Effect of phosphorus on the effectiveness of strains of Rhizobium japonicum. Soil Science Society of America Journal, 49: 613-616, 1985.

46. SHARPE, R.R. Phosphorus fertilization and tillage effect on dinitrogen fixation in soybeans. Plant and Soil, 96: 31-44, 1986.
47. SMART, J.B.; DILWORTH, M.J.; ROBSON, A.D. Effect of phosphorus supply on phosphate uptake and alkaline phosphatase activity in rizobia. Archives of Microbiology, 40: 281-286, 1984a.
48. SMART, J.B.; ROBSON, A.D.; DILWORTH, M.J. A continuous culture study of the phosphorus nutrition of Rhizobium trifolii WU 95, Rhizobium NGR 234 and Bradyrhizobium CB 756. Archives of Microbiology, 140: 276-280, 1984b.
49. TARAFDAR, J.C. & CLAASSEN, N. Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms. Biological Fertility of Soils, 5: 308-312, 1988.
50. TORRIANI, A. Influence of organic phosphate in the formation of phosphatases by Escherichia coli. Biochemistry and Biophysics Acta, 38: 460-469, 1960.
51. VETORI, I. Métodos de Análises do Solos. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura - EPF, 1969. 24p. (Boletim Técnico).
52. VINCENT, J.M. A manual for the practical study root-nodule bacteria. London, Burger, 1970. 164p.
53. WILLSKY, G.R. & MALAMY, M.H. Control of the synthesis of alkaline phosphatase and the phosphate-binding protein in Escherichia coli. Journal of Bacteriology, 127: 595-609, 1976.
54. WILLSKY, G.R. & MALAMY, M.H. Characterization of two genetically separable inorganic phosphate transport systems in Escherichia coli. Journal of Bacteriology, 114: 356-365, 1980.



APENDICE A

QUADRO 1A - Análise de Variância do Desdobramento de Inoculação Estirpe x Fósforo, Considerando as Estirpes Dentro dos Blocos de Fósforo, Referente aos Dados de Produção de Matéria Seca da Parte Aérea, Peso de Nódulos Frescos, Teor e Acumulação de Nitrogênio na Parte Aérea de Plantas de Soja 'Uberaba', Inoculadas ou Não com Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*

Causa de Variação	D.L.	Desdobros Nódulos			
		Matéria Seca Parte Aérea	Peso Nódulos	Teor de Nitrogênio	Acumulação de Nitrogênio
Estirpe/P <sub>55</sub>	4	4,53360	1,29270	4,54420	127,37320
Estirpe/P <sub>120</sub>	4	1,52360	7,32730	4,40740	41,71140
Estirpe/P <sub>200</sub>	4	6,30740	1,29430	3,42710	1,345,27500
Estirpe/P <sub>400</sub>	4	15,24530	1,23370	6,41710	1,774,53400
Erro	72	1,7405	1,2300	0,5114	223,3775

APENDICE

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.  
ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

## APÊNDICE A

QUADRO 1A - Análise de Variância do Desdobramento da Interação Estirpe x Fósforo, Considerando as Estirpes Dentro das Doses de Fósforo, Referente aos Dados de Produção de Matéria Seca da Parte Aérea, Peso de Nódulos Frescos, Teor e Acumulação de Nitrogênio na Parte Aérea de Plantas de Soja 'Uberaba', Inoculadas ou Não com Estirpes de Bradyrhizobium japonicum

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Matéria Seca Parte Aérea	Peso Nódulos Frescos	Teor de Nitrogênio	Acumulação de Nitrogênio
Estirpe/P <sub>50</sub>	4	0,6555ns	0,0927ns	0,0462**	137,3752ns
Estirpe/P <sub>100</sub>	4	1,2336ns	0,3258ns	0,0394**	66,7114ns
Estirpe/P <sub>200</sub>	4	6,3570**	1,3990**	0,0671**	1.345,5780**
Estirpe/P <sub>400</sub>	4	15,2025**	4,3531**	0,0171ns	1.779,6340**
Erro	76	1,7480	0,3687	0,0114	273,3779

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

QUADRO 2A - Análise de Variância da Regressão do Desdobramento da Interação Estirpe x Fósforo, Considerando as Doses de Fósforo Dentro de Estirpes, Referente aos Dados de Produção de Matéria Seca da Parte Aérea e Peso de Nódulos Frescos como Variáveis Dependentes e Doses de Fósforo como Variável Independente de Plantas de Soja, Inoculadas ou Não com Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*

Quadrados Médios

---

Causa de Variação	G.L.	Matéria Seca Parte Aérea				Peso Nódulos Frescos					
		Br 29	Br 52-a	Br 33	Br 96	Test.	Br 29	Br 52-a	Br 33	Br 96	Test
Regressão	2	205,6800**	227,1910**	230,5720**	141,1300**	122,0231**	33,7500**	20,4401**	22,2881**	50,4622**	28,6336**
Desvio da Regressão	1	1,5692ns	2,1600ns	4,7235ns	0,0177ns	1,7180ns	0,3813ns	0,2018ns	0,0018ns	0,1326ns	0,0524ns
Erro	76	1,7480	1,7480	1,7480	1,7480	1,7480	0,3687	0,3687	0,3687	0,3687	0,3687

---

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.  
ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

QUADRO 3A - Análise de Variância da Regressão do Desdobramento da Interação Estirpe x Fósforo, Considerando as Doses de Fósforo Dentro de Estirpes, Referente aos Dados de Teor e Acumulação de Nitrogênio na Parte Aérea como Variáveis Dependentes e Doses de Fósforo como Variável Independente de Plantas de Soja, Inoculadas ou Não com Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*

Quadrados Médios													
Causa de Variação	G.L.	Teor				Nitrogênio				Acumulação			
		Br 29	Br 52-a	Br 33	Br 96	Test.	Br 29	Br 52-a	Br 33	Br 96	Test.		
Regressão	2	0,0335ns	0,0011ns	0,0101ns	0,1223**	0,0348ns	21045,1575**	21711,7575**	16882,1300**	16740,7025**	10587,9975**		
Desvio de Regressão	1	0,003 ns	0,000006ns	0,0293ns	0,000032ns	0,0281ns	45,7812ns	329,9414ns	667,5585ns	11,48430ns	697,6170ns		
Erro	76	0,0114	0,0114	0,0114	0,0114	0,0114	273,3779	273,3779	273,3779	273,3779	273,3779		

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.  
 ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

QUADRO 4A - Análise de Variância da Regressão dos Dados de Produção de Matéria Seca das Raízes, Teor e Acumulação de Fósforo na Parte Aérea e Atividade Específica de Fosfatase Alcalina dos Bacteróides como Variáveis Dependentes e Doses de Fósforo como Variável Independente, de Plantas de Soja, Inoculadas ou Não com Estirpes de Bradyrhizobium japonicum

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Matéria Seca da Raiz	Atividade Específica de Fosfatase Alcalina	Fósforo	
				Teor	Acumulação
Regressão	2	57,2057**	0,0060**	0,0466**	1822,4225**
Desvio da Regressão	1	1,0785ns	0,0013ns	0,000075ns	3,7811ns
Erro	76	0,2529	0,0014	0,0003	4,3114

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

QUADRO 5A - Análise de Variância do Desdobramento da Interação Estirpe x Fósforo, Considerando as Estirpes Dentro das Doses de Fósforo, Referente aos Dados de Produção de Matéria Seca da Parte Aérea, Acumulação de Nitrogênio, Teor e Acumulação de Fósforo na Parte Aérea e Atividade Específica de Fosfatase Alcalina dos Bacteróides Extraídos de Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Matéria Seca Parte Aérea	Acumulação de Nitrogênio	Fósforo	
				Teor	Acumulação
Estirpe/P <sub>50</sub>	4	0,1497ns	19,02ns	0,0004ns	0,0921ns
Estirpe/P <sub>100</sub>	4	0,7591ns	24,41ns	0,0005ns	0,4225ns
Estirpe/P <sub>200</sub>	4	4,4600ns	235,93ns	0,0027ns	11,2636ns
Estirpe/P <sub>400</sub>	4	16,7806**	1566,76**	0,0053**	20,813**
Erro	76	2,1029	163,51	0,0006	5,1272

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.  
ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

QUADRO 6A - Análise de Variância da Regressão do Desdobramento da Interação Estirpe x Fósforo Considerando as Doses de Fósforo Dentro de Estirpes, Referente aos Dados de Produção de Matéria Seca e Acumulação de Nitrogênio na Parte Aérea como Variáveis Dependentes e Doses de Fósforo como Variável Independente de Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli

Quadrados Médios

Causa de Variação	Matéria Seca Parte Aérea				Acumulação Nitrogênio					
	Br 266	Br 1008	Br 322	Br 281	Test.	Br 266	Br 1008	Br 322	Br 281	Test.
Regressão 2	24,9060**	104,7034**	67,9600**	76,1539**	102,0951**	1307,9217**	6914,8850**	6573,5000**	6197,2550**	7769,1575**
Desvio da Regressão 1	3,8084ns	0,3635ns	0,9275ns	1,5739ns	0,0054ns	0,4345ns	19,9743ns	48,8635ns	7,6036ns	7,3037ns
Erro 76	2,1029	2,1029	2,1029	2,1029	2,1029	163,5078	163,5078	163,5078	163,5078	163,5078

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.  
ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

QUADRO 7A - Análise de Variância da Regressão do Desdobramento da Interação Estirpe x Fósforo Considerando as Doses de Fósforo Dentro de Estirpes, Referente aos Dados de Teor e Acumulação de Fósforo da Parte Aérea como Variáveis Dependentes e Doses de Fósforo como Variável Independente, de Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli

Causa de Variação	G L.	Quadrados Médios									
		Teor					Fósforo				
		Br 266	Br 10008	Br 322	Br 281	Test.	Br 266	Br 10008	Br 322	Br 281	Test.
Regressão	2	0,042698**	0,014017**	0,019478**	0,019262**	0,015916**	158,1696**	355,8300**	276,9667**	346,8955**	361,6480**
Desvio da Regressão	1	0,000641ns	0,000079ns	0,002058ns	0,000514ns	0,000200ns	1,1402ns	0,1146ns	0,0610ns	2,8125ns	0,4798ns
Erro	76	0,000580	0,000580	0,000580	0,000580	0,000580	5,1272	5,1272	5,1272	5,1272	5,1272

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.  
ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.



QUADRO 9A - Produção de Matéria Seca da Parte Aérea (MSPA) e Raiz (MSPR), Peso de Nódulos Frescos (MNF), Atividade Específica de Fosfatase Alcalina (MFA), Teor (MTPA) e Acumulação (MAPA) de Nitrogênio e Teor (MPPA) e Acumulação (APPA) de Fósforo na Parte Aérea de Plantas de Soja Inoculadas ou Não com Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e Cultivadas sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias

QUADRO 8A - Análise de Variância da Regressão dos Dados de Produção de Matéria Seca de Raízes, Peso de Nódulos Frescos e Teor de Nitrogênio na Parte Aérea e Atividade Específica de Fosfatase Alcalina em Bacteróides como Variáveis Dependentes e Doses de Fósforo como Variável Independente, de Plantas de Feijão 'Negro Argel', Inoculadas ou Não com Estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Matéria Seca Raiz	Peso Nódulos Frescos	Teor de Nitrogênio	Atividade Específica de Fosfatase Alcalina
Regressão	2	70,7165**	21,0518**	0,8119**	0,8372**
Desvio da Regressão	1	2,2170ns	0,0412ns	0,3521ns	0,0768ns
Erro	76	3,4604	0,1038	0,0332	0,0185

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.  
ns Não-significativo a 1% de probabilidade, pelo Teste F.

QUADRO 9A - Produção de Matéria Seca da Parte Aérea (MSPA) e Raiz (MSR), Peso de Nódulos Frescos (PNF), Atividade Específica de Fosfatase Alcalina (APA), Teor (TNPA) e Acumulação (ANPA) de Nitrogênio e Teor (TPPA) e Acumulação (APPA) de Fósforo na Parte Aérea de Plantas de Soja Inoculadas ou Não com Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e Cultivadas Sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias

Dose <sup>1</sup> de Fósforo	Estirpe	MSPA	MSR	PNF	APA <sup>2</sup>	TNPA	ANPA	TPPA	APPA	
		-----	g/vaso	-----		(%)	(mg/vaso)	(%)	(mg/vaso)	
50	Br29	1,9400	1,5500	0,7800	0,2076	0,8027	15,5723	0,0360	0,6991	
		2,9000	1,5100	0,5600	0,2090	0,7308	21,1918	0,0360	1,0450	
		2,1300	1,6500	0,2900	0,2075	0,9760	20,6732	0,0454	0,9665	
		3,3900	2,0200	0,5500	0,2000	0,8918	30,2312	0,0441	1,4960	
		4,7300	1,9600	1,0600	0,2107	0,6896	32,6200	0,0379	1,7928	
	Br52-a	2,5500	1,4400	0,3400	0,2075	0,8096	20,6435	0,0391	0,9983	
		2,9900	1,7200	0,4400	0,2080	1,0220	30,5567	0,0516	1,5426	
		2,8600	1,4600	0,3900	0,2071	1,0151	29,0322	0,0435	1,2443	
		3,7500	2,2500	0,3600	0,0000	0,9123	34,2124	0,0373	1,3980	
		3,0900	2,4100	0,3100	0,0000	0,9671	29,2848	0,0690	2,1333	
	Br33	4,6400	1,8100	0,7100	0,2077	0,9637	44,7166	0,0497	2,3076	
		3,9100	1,9600	0,5400	0,2089	1,0631	41,5662	0,0510	1,9933	
		3,4800	2,1500	0,6600	0,2088	0,8130	28,2916	0,0454	1,5790	
		3,7500	1,8800	0,5000	0,0000	1,0288	38,5806	0,0460	1,7249	
		3,3500	2,1000	0,6000	0,2076	0,9192	30,7926	0,0373	1,2489	
	Br96	3,1200	1,5900	0,5500	0,2083	0,7547	23,5477	0,0360	1,1243	
		3,2200	1,3200	0,3800	0,2073	0,8233	26,5088	0,0391	1,2605	
		4,2700	2,2400	0,6900	0,2089	0,6657	28,4236	0,0342	1,4589	
		3,1200	1,7700	0,7700	0,2091	0,7650	23,8684	0,0410	1,2797	
		2,6300	1,7300	0,6100	0,2094	0,9725	17,6870	0,0317	0,8331	
	Test.	1,9700	1,0500	0,2400	0,2077	0,9706	19,1203	0,0429	0,8448	
		3,0400	1,5100	0,4000	0,2077	0,9466	28,7764	0,0460	1,3983	
		3,2700	1,7100	0,4100	0,2077	0,8609	28,1527	0,0423	1,3819	
		3,8700	2,1500	0,6400	0,2092	1,0014	38,7544	0,0491	1,9006	
		2,5000	1,5000	0,3400	0,2085	0,8541	21,3522	0,0404	1,0098	
	50	Br29	3,9800	2,0500	0,7100	0,2079	0,9706	38,6288	0,0547	2,1777
			4,7100	2,3500	1,1100	0,2133	0,7513	35,3866	0,0454	2,1371
			4,1500	2,0000	0,7700	0,2095	0,8678	36,0134	0,0504	2,0898
			5,1500	2,6300	0,7000	0,2070	0,8507	43,8091	0,0466	2,4009
			5,6400	2,5400	1,4000	0,2107	0,8376	47,2044	0,0472	2,6645
Br52-a		3,4900	1,6200	0,3400	0,2079	0,8335	29,0903	0,0385	1,3445	
		4,1900	1,8000	0,6400	0,2103	0,9021	37,7960	0,0510	2,1360	
		3,4600	1,6800	0,4300	0,2080	1,0903	37,7307	0,0784	2,7119	
		4,3000	2,3200	0,7300	0,2097	1,0014	43,0604	0,0516	2,2189	
		5,6500	3,0000	0,9300	0,2172	0,9569	54,0630	0,0435	2,4581	

Continua...

## QUADRO 9A, Cont.

100	Br33	6,2600	2,5300	1,1400	0,2076	0,9021	56,4684	0,0541	3,3862	
		6,4500	2,4200	1,1100	0,2133	0,8541	55,0887	0,0423	2,7258	
		4,7000	1,9200	0,6400	0,2086	0,8335	39,1760	0,0379	1,7814	
		4,7100	2,1000	0,7900	0,2084	0,8575	40,3889	0,0354	1,6679	
		5,5600	2,7500	1,4200	0,2080	0,6588	36,6296	0,0373	2,0727	
	Br96	4,9100	2,1200	1,4000	0,2071	0,7376	36,2163	0,0304	1,4941	
		5,5600	2,7500	0,6400	0,2070	0,6794	37,7725	0,0466	2,5921	
		3,9500	2,1300	0,9200	0,2096	0,7136	28,4246	0,0429	1,6939	
		4,9200	2,3300	1,1700	0,2092	0,6794	33,4246	0,0318	1,7116	
		6,4700	3,4600	2,5400	0,2092	0,7787	50,3829	0,0535	3,4595	
	Test.	5,1100	2,6500	0,9600	0,2090	0,7513	38,3918	0,0510	2,6050	
		5,5600	2,6100	1,2400	0,2113	0,8815	49,0112	0,0479	2,6613	
		4,8600	2,4500	0,7600	0,2086	0,9534	46,3373	0,0491	2,3868	
		4,1600	2,1700	0,7700	0,2105	0,8164	33,9623	0,0448	1,8610	
		5,6300	2,8400	1,2100	0,2112	0,0596	59,6582	0,0472	2,6598	
	200	Br29	9,4000	3,0700	2,0400	0,2089	0,7582	71,2670	0,0528	4,9676
			8,8900	3,1200	2,0600	0,2077	0,8507	75,6239	0,0690	6,1374
			9,1700	3,8700	2,8500	0,2270	0,9055	83,0323	0,0672	6,1594
			10,5900	4,0500	3,2600	0,2119	0,8507	90,0851	0,0653	6,9154
			9,4800	4,0400	2,7100	0,2119	0,8918	84,5402	0,0690	6,5447
Br52-a		4,5400	3,5200	1,8300	0,2084	1,0665	48,4191	0,0678	3,0777	
		9,7800	4,2800	2,3500	0,2073	1,0083	98,6077	0,0659	6,4430	
		10,4300	4,2100	1,8300	0,2107	0,9500	99,0867	0,0697	7,2655	
		10,2000	3,7600	1,8700	0,2080	0,8952	91,3104	0,0622	6,3431	
		11,5800	4,0000	2,1200	0,2198	0,9363	108,4250	0,0616	7,1292	
200	Br33	12,7700	4,1100	1,6900	0,2080	0,7479	95,5045	0,0591	7,5437	
		11,9000	4,8400	2,6400	0,2084	0,8712	103,6750	0,0678	8,0672	
		10,9900	4,3900	2,5200	0,2125	0,9603	105,5364	0,0665	7,3134	
		9,9000	3,8800	1,7200	0,2084	0,9774	96,7650	0,0659	6,5264	
		11,5700	4,1900	1,6000	0,2091	0,7650	88,5119	0,0510	5,8982	
	Br96	8,7900	3,6800	3,2200	0,2077	0,8061	70,8583	0,0572	5,0284	
		8,9800	3,7100	3,7600	0,2228	0,6794	61,0067	0,0560	5,0252	
		7,3600	3,3400	2,5600	0,2165	0,6965	51,2618	0,0585	4,3020	
		8,6200	3,6600	4,0900	0,2081	0,7753	66,8300	0,0759	6,5415	
		7,9100	3,4800	2,8900	0,2207	0,7479	59,1574	0,0690	5,4608	
Test.	12,6700	4,5900	2,5100	0,2078	0,9500	120,3671	0,0690	8,7470		
	11,2500	4,7100	2,0700	0,2071	0,9295	104,5643	0,0622	6,9961		
	8,6000	3,1800	2,4200	0,2167	1,0093	86,7102	0,0796	6,8476		
	6,4400	2,4600	2,4000	0,2100	0,9192	59,1953	0,0740	4,7668		
	10,5700	4,3700	2,8700	0,2233	1,3988	147,8556	0,0796	8,4162		
200	Br29	11,5000	3,8000	4,4700	0,2043	0,9706	111,6158	0,1076	12,3792	
		13,3300	4,0200	5,0000	0,2214	0,9158	122,0703	0,1002	13,3530	
		15,2100	4,8800	6,3600	0,2302	1,1350	172,6367	0,1170	17,7935	
		17,1900	4,3600	5,3500	0,2103	0,8918	153,2959	0,0971	16,6844	
		16,2300	4,3600	5,2600	0,2097	0,9569	155,2997	0,1151	18,6835	

Continua...

## QUADRO 9A, Cont.

	Br52-a	12,9400	2,4800	4,1000	0,2136	0,8952	115,8389	0,1257	16,2660
		15,2000	5,1200	3,1700	0,2199	0,8507	129,3007	0,0827	12,5760
		15,0500	5,1500	4,5400	0,2226	1,1350	170,8206	0,1301	19,5744
		16,3800	5,2400	4,1300	0,2112	0,7650	125,3089	0,0883	14,4703
		16,1800	5,3600	3,8800	0,2217	1,2070	195,2872	0,1475	23,8652
400	Br33	17,8700	4,7200	5,5600	0,2077	1,0459	186,9103	0,1120	20,0151
		13,8700	4,4000	4,1700	0,2120	0,7821	108,4831	0,0902	12,5120
		16,8200	4,7200	4,9100	0,2089	0,8883	149,4202	0,1525	25,6470
		15,7200	4,9900	4,6100	0,2101	0,7582	119,1828	0,0883	13,8872
		15,6000	4,7500	2,9700	0,2077	0,8472	132,1689	0,0952	14,8498
	Br96	12,9600	4,2300	5,7600	0,2203	0,9158	118,6820	0,1108	14,3543
		13,0600	3,6400	6,1600	0,2262	1,1179	145,9965	0,1531	19,9951
		13,4400	4,1300	6,5900	0,2127	1,0665	143,3376	0,1562	20,9954
		13,6100	4,5700	6,9700	0,2106	0,9226	125,5670	0,1487	20,2440
		12,9000	4,2600	6,5600	0,2184	0,9089	117,2487	0,1413	18,2239
	Test	8,1500	2,5500	4,5500	0,2081	1,0699	87,1989	0,2148	17,5021
		13,4800	4,7200	5,9200	0,2201	0,8918	120,2112	0,1070	14,4266
		13,3200	5,1300	5,6400	0,2108	0,8472	112,8512	0,1176	15,6654
		10,3200	4,1900	1,7300	0,2094	0,8072	82,8384	0,0690	7,1246
		12,6100	4,8800	6,1200	0,2158	0,7753	97,7641	0,1176	14,8304

1/ mg de P/kg de solo.

2/  $\mu$ moles paranitrofenol/mg proteina/min.

QUADRO 10A - Produção de Matéria Seca da Parte Aérea (MSPA) e Raiz (MSR), Peso de Nódulos Frescos (PNF), Atividade Específica de Fosfatase Alcalina (APA), Teor (TNPA) e Acumulação (ANPA) de Nitrogênio e Teor (TPPA) e Acumulação (APPA) de Fósforo na Parte Aérea de Plantas de Feijão, Inoculadas ou Não com Estirpes de Rhizobium leguminosarum bv, phaseoli e Cultivadas Sob Diferentes Doses de Fósforo por 45 Dias

Dose <sup>1</sup> de Fósforo	Estirpe	MSPA ----- g/vaso	MSR g/vaso	PNF -----	APA <sup>2</sup>	TNPA (%)	ANPA (mg/vaso)	TPPA (%)	APPA (mg/vaso)
50	Br266	0,7500	1,2900	0,0000	0,0000	1,2960	9,7203	0,0678	0,5084
		0,8200	2,4200	0,0000	0,0000	1,1933	9,7848	0,0734	0,6018
		1,9000	1,3800	0,0000	0,0000	0,6348	12,1886	0,0535	1,0266
		2,4600	2,7100	0,0000	0,0000	0,5951	14,6896	0,0572	1,4073
		0,4900	0,9300	0,0000	0,0000	1,2618	6,1827	0,0753	0,3688
	Br10008	1,8600	1,6200	0,3200	0,4277	0,6896	12,8273	0,0578	1,0756
		1,3300	4,5200	0,1100	0,4149	1,0220	13,5921	0,0572	0,7608
		1,3500	1,4700	0,1200	0,4170	1,1008	14,8603	0,0771	1,0413
		2,1200	1,3000	0,0000	0,0000	0,8472	17,9614	0,0597	1,2656
		0,4200	1,1400	0,0000	0,0000	1,7209	7,2276	0,0734	0,3083
	Br322	1,3800	4,1300	0,1300	0,4170	0,8301	11,4555	0,0585	0,8066
		1,4100	1,1300	0,1100	0,4173	0,9466	13,3469	0,0678	0,9559
		1,2400	1,7200	0,1100	0,4157	1,0768	13,5221	0,0809	1,0028
		1,2700	1,7100	0,0000	0,0000	1,1727	14,8934	0,0703	0,8926
		0,6300	0,9000	0,0000	0,0000	1,3303	8,3809	0,0460	0,9828
Br281	1,4400	2,8600	0,0000	0,0000	1,1316	16,2950	0,0809	1,1645	
	1,0400	0,7800	0,0000	0,0000	0,9500	9,8802	0,0641	0,6662	
	1,1000	0,7100	0,0000	0,0000	1,3303	14,6333	0,0746	0,8211	
	0,0400	0,7900	0,1100	0,4776	1,5633	0,6253	0,0771	0,0309	
	1,2900	1,6200	0,0000	0,0000	1,2378	15,9676	0,0933	1,2039	
Test.	1,7600	1,2200	0,0000	0,0000	1,2207	21,4838	0,1064	1,8726	
	0,8000	1,1400	0,0000	0,0000	1,3817	11,0535	0,1064	0,8512	
	1,0500	2,9200	0,0000	0,0000	1,1796	12,3854	0,0678	0,7118	
	1,8200	2,2300	0,0000	0,0000	0,8575	15,6068	0,0715	1,3018	
	1,4300	1,0700	0,0000	0,0000	1,2241	17,5046	0,0516	0,7379	
Br266	2,9800	3,9500	2,0000	0,4482	0,5629	16,6748	0,0846	2,5212	
	2,8600	2,2800	0,7200	0,4230	0,4875	13,9427	0,0647	1,8498	
	3,6000	6,3100	0,6000	0,4258	0,6846	24,8270	0,0609	2,1939	
	1,5800	1,5800	0,4400	0,4402	0,7753	12,2496	0,0722	1,1400	
	3,6100	2,8800	0,7600	0,4224	0,7136	25,7617	0,0834	3,0093	

Continua...

## QUADRO 10A, Cont.

	Br10008	2,1600	4,2800	0,3500	0,4380	0,7821	16,8943	0,0597	1,2894
		2,0900	4,7200	0,1700	0,2087	0,8335	17,4208	0,0753	1,5730
		2,1700	2,3100	0,7500	0,4215	0,8027	17,4185	0,0750	1,6062
		2,2400	2,7000	0,6000	0,4102	0,9329	20,8967	0,0809	1,8115
		2,3400	1,4200	0,1900	0,4276	0,7513	17,5806	0,0641	1,4939
100	Br322	0,6100	1,7700	0,0000	0,0000	0,9671	5,8996	0,1182	0,7212
		2,3300	2,4200	0,1630	0,4161	0,8172	19,7406	0,0690	0,6086
		1,4000	2,2100	0,1300	0,4001	1,1761	16,4659	0,1182	1,6552
		2,8900	2,1500	0,7030	0,4404	0,7924	22,9009	0,0759	2,1931
		2,5500	1,3000	0,5030	0,4293	0,6006	15,3144	0,0815	2,0780
	Br281	3,3200	1,5700	0,7300	0,4406	0,5903	19,5975	0,0566	1,8786
		2,4500	3,9900	0,5200	0,4197	0,6691	16,3926	0,0765	1,8745
		2,4000	1,3000	0,4900	0,4101	1,2138	16,2000	0,1039	1,8000
		1,2300	1,4900	0,1500	0,4100	0,8198	10,0839	0,1307	1,6064
		3,0700	1,6300	0,2900	0,4173	0,6283	19,5943	0,0572	1,7562
	Test.	2,4400	6,4500	0,2300	0,4203	0,8096	19,7530	0,0634	1,5478
		3,5600	2,2700	0,3000	0,4180	0,6657	23,6974	0,0634	2,2582
		2,4900	2,4300	0,6800	0,4216	0,8233	20,4990	0,0678	1,6880
		1,0200	0,9600	0,1900	0,4261	0,9877	10,0746	0,0740	0,7550
		1,3600	1,6700	0,1600	0,4160	0,9740	13,2464	0,0784	1,0659
	Br266	5,5500	3,0200	1,7500	0,4680	0,6451	35,8032	0,0665	3,6933
		3,5400	5,7200	0,5200	0,4196	0,4772	16,8939	0,2004	7,0951
		6,3200	5,6100	1,6700	0,4723	0,8164	51,5966	0,1114	7,0393
		4,5400	1,6700	1,4300	0,4402	0,7821	35,5092	0,0890	4,0390
		4,5500	4,0500	0,7600	0,4206	0,4293	19,5315	0,1967	8,9495
	Br10008	5,5500	9,3100	1,6500	0,4672	0,8335	46,2610	0,0952	5,2831
		3,0100	6,8800	1,4100	0,4167	0,8096	24,3675	0,1045	3,1464
		5,1600	4,8800	1,2000	0,4349	0,7410	38,2371	0,1027	5,2974
		7,4500	3,2000	1,3500	0,4173	0,7205	53,6752	0,0871	6,4886
		3,0600	1,5500	1,3200	0,4557	0,7924	24,2480	0,1126	3,4464
200	Br322	4,3500	3,6200	1,1500	0,4550	0,8198	35,6625	0,0840	3,6532
		3,6400	2,5400	0,8500	0,4162	0,7102	25,8511	0,0802	2,9209
		4,6600	3,5700	0,8300	0,4306	0,7616	35,4899	0,0827	3,8555
		5,7900	2,6800	0,7800	0,4589	0,8130	47,0713	0,0927	5,3673
		5,3600	2,4800	0,6300	0,4322	0,7582	40,6374	0,0915	4,9020
	Br281	3,7800	2,5300	0,9600	0,4371	0,8170	27,1044	0,0877	3,3158
		2,6600	2,2500	0,8500	0,4307	0,8198	21,8074	0,0859	2,2836
		2,6600	1,3800	1,0000	0,4253	0,8335	22,1720	0,0778	2,0683
		2,5000	1,2000	0,9000	0,4201	0,8046	21,0000	0,0740	2,0306
		4,1900	1,8100	0,9600	0,4496	0,7308	30,6185	0,0821	3,4406
	Test.	4,1200	2,2600	0,8100	0,4567	0,8575	35,3295	0,0684	2,8187
		4,2800	1,5500	1,1000	0,4459	0,7479	32,0093	0,0722	3,0880
		4,4600	2,2600	0,9000	0,4368	0,7929	35,3419	0,0827	3,6901
		4,6600	2,3700	1,4700	0,4575	0,6759	31,4986	0,0740	3,4493
		3,6300	1,5200	1,8900	0,4459	0,7308	26,5263	0,0802	2,9129

Continua...

## QUADRO 10A, Cont.

	Br266	4,3300	7,2200	2,0000	0,4641	0,6006	26,0044	0,2521	10,9165
		4,1000	2,8400	2,0000	0,4657	0,7821	32,0678	0,3075	12,6088
		1,3700	3,2700	2,0000	0,4474	1,0220	14,0009	0,2284	3,1298
		9,2800	2,6400	2,0000	0,4302	0,7136	66,2241	0,1624	15,0747
		6,8000	4,5400	1,9800	0,4500	0,9123	62,0385	0,1967	13,3750
	Br1000B	9,8200	15,2900	2,0000	0,4641	0,9295	91,2730	0,1786	17,5418
		9,2600	3,7700	1,8700	0,4703	0,8507	78,7713	0,1861	17,2334
		10,2600	1,8000	1,9100	0,4607	0,8370	85,8719	0,1743	17,8805
		9,8600	8,5700	1,7700	0,4692	0,7136	70,3631	0,1568	15,4643
		9,0300	2,3300	1,0800	0,4337	0,7924	73,6950	0,1151	10,7059
400	Br322	8,0500	10,4500	1,3000	0,4659	1,0083	81,1648	0,1624	13,0766
		8,9100	6,7400	1,7100	0,4640	0,9226	82,2044	0,1811	16,1381
		4,9100	2,4700	1,9800	0,4697	1,0562	51,8605	0,2073	10,1773
		10,3500	3,8200	1,5500	0,4661	0,9226	100,1030	0,1687	18,3007
		6,4600	2,7300	2,0000	0,4631	1,0768	69,5599	0,1954	12,6258
	Br281	10,2900	2,5500	2,0000	0,4652	1,0762	108,6853	0,1867	19,2143
		7,2300	2,9600	1,9200	0,4270	0,8363	67,6953	0,2135	15,4364
		11,4400	5,5200	1,0200	0,4240	0,8404	96,1399	0,1755	20,0794
		3,5500	2,0500	1,2900	0,4597	0,7513	26,6703	0,1587	5,6341
		8,1900	7,3000	1,2100	0,4512	0,7410	60,6903	0,1824	14,9360
	Test.	10,5500	6,9000	2,0000	0,4670	0,8986	94,8050	0,1724	18,1888
		9,2100	3,8400	1,8100	0,4576	0,8609	79,2926	0,1475	13,5846
		11,8600	4,1100	1,8600	0,4325	0,9260	100,8277	0,1786	21,1859
		8,8200	2,9700	1,8400	0,4664	0,9603	84,6980	0,1624	14,3275
		7,5500	4,7400	1,0900	0,4546	0,7068	53,3611	0,1737	13,1107

1/ mg de P/kg de solo.

2/  $\mu$ moles paranitrofenol/mg proteína/min.