



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

IZAIAS FRANÇA JUNIOR

**EFICIÊNCIA NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N₂ POR ESTIRPES DE *Bradyrhizobium*
NA SOJA EM SOLOS DE RORAIMA**

Boa Vista - RR
2012

IZAIAS FRANÇA JUNIOR

**EFICIÊNCIA NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N₂ EM SOJA POR ESTIRPES DE
Bradyrhizobium ISOLADOS DE SOLOS DE RORAIMA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Roraima, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, com área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Dr. Aloisio Alcantara Vilarinho
Co-orientador: Dr. Jerri Édson Zilli

Boa Vista - RR

2012

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

F814e França Junior, Izaias

Eficiência na fixação biológica de N₂ em soja por estirpes de Bradyrhizobium isolados de solos de Roraima / Lucio Augusto Villela da Costa. – Boa Vista, 2012.

57 p.

Orientador: Prof. Dr. Aloisio Alcantara Vilarinho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

1 – *Glycine max.* 2 – Soja. 3 – Caracterização. I - Título. II – Vilarinho, Aloisio Alcantara (orientador).

CDU 633.34(81)

IZAIAS FRANÇA JUNIOR

**EFICIÊNCIA NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N₂ POR ESTIRPES DE *Bradyrhizobium*
NA SOJA EM SOLOS DE RORAIMA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Roraima, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, com área de concentração em Produção Vegetal.

Aprovada em: 31 de agosto de 2012.

Pesquisador Dr. Aloisio Alcantara Vilarinho
Orientador – Embrapa Roraima

Pesquisador Dr. Roberto Dantas de Medeiros
Embrapa Roraima

Pesquisadora Dra. Krisle da Silva
Embrapa Roraima

Professor Dr. José de Anchieta Alves de Albuquerque
UFRR

DEDICATÓRIA

Primeiramente a DEUS por me conceder o dom da vida, aos meus Pais, minha eterna gratidão e carinho, por conduzirem minha vida nos caminhos da sabedoria e do conhecimento, à minhas irmãs e aos meus tios fontes de inspiração.

AGRADECIMENTOS

Os meus maiores e sinceros agradecimentos a Deus, ao meu senhor Jesus Cristo, a Minha família, aos meus Amigos, aos honrados professores pela valorosa e primordial contribuição para a construção deste sonho.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi selecionar e avaliar estirpes de *Bradyrhizobium* coletados dos solos do Cerrado no Estado de Roraima capazes de nodular soja. Em abril de 2009 foi realizada uma coleta de solo em três áreas de cerrado para isolamento, purificação e caracterização de isolados. Posteriormente estes isolados foram avaliados quanto a capacidade de nodular soja em casa de vegetação. Os isolados que nodularam e se destacaram foram avaliados quanto sua eficiência simbiótica em casa de vegetação na cultura da soja. Após os testes de eficiência foram selecionadas duas estirpes para experimento em casa de vegetação em duas cultivares de soja (BRS tracajá e BRS 333-RR transgênica.) repetindo este ensaio em condições de campo. Após o isolamento e purificação dos isolados foi obtida uma coleção com 250 bactérias, todas capazes de nodular a soja, destas bactérias foram selecionados 40 isolados que se destacaram, na formação de nódulos e massa seca de nódulos, destes todos obtiveram número de nódulos superiores a 40 por planta, e para massa seca de nódulos os isolados foram divididos em dois grupos, os que apresentaram médias inferiores a 0,56 g/planta e os que apresentaram massa superior a 0,59 g/planta, da mesma forma se comportou a massa seca da parte aérea. Dos 40 isolados foram selecionados os isolados ERR-94 e ERR-148. Estes isolados foram avaliados nas cultivares BRS-333 e BRS-tracajá, apresentaram médias superiores às encontradas pela estirpe recomendada para cultura, para número e massa de nódulos e para massa seca parte aérea. Destaque para isolado ERR-94 inoculado na cultivar BRS-333, que superou o tratamento nitrogenado, apresentando efetividade na fixação biológica de nitrogênio de 149%. Esses resultados foram similares aos encontrados em condições de campo. Com estes resultados pode-se concluir que os isolados nativos dos solos são capazes de nodular as plantas de soja, as estirpes ERR-94 e ERR-148 proporcionaram boa nodulação, grande acúmulo de N na parte aérea e alta efetividade na fixação biológica de nitrogênio e as cultivares responderam positivamente à inoculação com as estirpes ERR-94 e ERR-148, com destaque para a cultivar BRS-333 inoculada com a estirpe ERR-94.

Palavras-chave: *Glycine Max* (L) Merrill, cultivares, FBN, caracterização fenotípica.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate and select *Bradyrhizobium* strains that promoted nodulation in soybean crop on Cerrado soils of Roraima, Brazil. The soil collection was made in three areas of cerrado for isolation, purification and characterization of the isolates in April 2009. These isolates were evaluated for the ability to promoting nodulation in soybean under greenhouse conditions, and the best ones were selected by the symbiotic efficiency. After the efficiency tests, it were selected two strains to be tested in two soybean cultivars (BRS tracajá and the transgenic BRS 333-RR) under field conditions. After the purification and isolation procedure, were made a set of 250 bacteria, all of them with the ability to promote soybean nodulation, and 40 of them showed a good performance on nodules formation (40 per plant) and nodules dry mass. The isolates were divided in two groups, the ones with values under 0,56 g/plant, and the ones with values above 0,59 g/plant, the dry mass of the aerial part had the same response. The selected isolates were the ERR-94 and ERR-148, these were tested on the BRS-333 and BRS-tracajá cultivars, showing better performance than the usual strain for soybean. The combination of ERR-94 and BRS-333 surpassed the nitrogen treatment, showing a 149% on nitrogen biologic fixation. These results were similar to the field results. It can be concluded that the native isolates from Cerrado soils were capable to nodulating the soybean, the ERR-94 and ERR-148 strains promoted good nodulation, better nitrogen accumulation on aerial part and efficient nitrogen biological fixation. The cultivars responded positively to the inoculation with the ERR-94 and ERR-148 strains, the better combination were the BRS-333 cultivar with the ERR-94 strain.

Key words: Glycine max, isolation, biological nitrogen fixation

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Geral	13
2.2	Específicos	13
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	A cultura da soja no Brasil e em Roraima	14
3.2	Nitrogênio	15
3.3	Fixação biológica de nitrogênio (FBN)	16
3.4	Bactérias recomendadas para cultura da soja	18
3.5	Cultivares de soja	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	Isolamento, purificação e caracterização dos isolados	22
4.2	Avaliação da capacidade dos isolados obtidos em nodular soja	24
4.3	Ensaio de eficiência dos isolados capazes de nodular soja	24
4.4	Eficiência simbiótica de isolados selecionados em duas cultivares de soja em casa de vegetação	25
4.5	Eficiência simbiótica de isolados selecionados com duas cultivares de soja em campo..	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	Isolamento, purificação e caracterização dos isolados	28
5.2	Avaliação da capacidade dos isolados obtidos em nodular soja	29
5.3	Ensaio de eficiência dos isolados capazes de nodular soja	29

5.4	Eficiência simbiótica de isolados selecionados com duas cultivares de soja em casa de vegetação	30
5.5	Eficiência simbiótica de isolados selecionados com duas cultivares de soja em campo..	34
6	CONCLUSÃO	37
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
8	ANEXO	47

1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é realizada por diversos microrganismos procariontes, porém a associação entre rizóbios e plantas da família das leguminosas é a simbiose mais bem estudada. Dentre as leguminosas de grão, a soja [*Glycine Max* (L) Merrill] é a que apresenta maior exploração da FBN via produção de inoculantes rizobianos, principalmente no Brasil, onde não são aplicados fertilizantes nitrogenados para esta cultura (HUNGRIA et al., 2006).

O sucesso da inoculação em soja no Brasil deve-se principalmente a um trabalho de seleção de estirpes desde a introdução da cultura no Brasil no início do século XX (JARDIM FREIRE et al, 1999). Parte das condições que colaboraram para o sucesso da inoculação da soja com estirpes de rizóbio no Brasil se deve também à ausência de plantas do gênero *Glycine* naturalmente presentes no território nacional, evitando assim a seleção de estirpes compatíveis com a espécie e seu estabelecimento nos solos brasileiros (JARDIM FREIRE et al, 1999), a exemplo do que ocorreu com outras leguminosas de origem americana como o feijão comum. Dessa forma é preconizado que os solos brasileiros não detêm naturalmente isolados de rizóbio capazes de nodular a soja, embora alguns trabalhos recentes têm demonstrado essa possibilidade (HUNGRIA et al., 2006).

A soja é uma das culturas de maior importância no país, não só pela extensão da área cultivada, mas por sua diversidade de utilização, em que se destacam a alimentação humana e animal, e por seus reflexos sócio-econômicos. É uma espécie exótica para o Brasil e de grande interesse socioeconômico, em função dos teores elevados de proteína (40%) e óleo (20%), da alta produtividade de grãos e da possibilidade de adaptação a ambientes diversos. O país é considerado a grande promessa no fornecimento do esperado incremento da demanda mundial de soja, cujo crescimento médio, nos últimos 40 anos, tem sido da ordem de cinco milhões de ton./ano. Não é possível pensar no Brasil sem a soja, sem os mais de 10 bilhões de dólares que agrega anualmente à sua balança comercial, assim como outros 50 bilhões de dólares que gera em benefícios indiretos representados, principalmente, por 4,5 milhões de empregos derivados da sua extensa cadeia produtiva que inclui, antes da porteira, as indústrias de defensivos, de fertilizantes, de máquinas e de implementos e, depois da porteira, as empresas de transporte, armazenagem, processamento e exportação. Mais de 240.000 produtores brasileiros trabalham e vivem do cultivo dessa oleaginosa.

Diferenças quanto à eficiência no processo de FBN entre genótipos comerciais de soja foram relatadas por Hungria Bohrer (2000), com indicações de perdas de até 30% na contribuição de N para as plantas, em comparação com as cultivares parentais. Como, durante o processo de melhoramento para a obtenção de novas cultivares, as avaliações são feitas com o uso de inoculantes comerciais é esperado que as cultivares obtidas sejam eficientes na simbiose com essas bactérias para fixação do N atmosférico. Porém, não se sabe ao certo qual será o comportamento dessas cultivares com a utilização de estirpes de bactérias diferentes daquelas utilizadas durante as avaliações, sendo importante que essas avaliações sejam feitas.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isolados de solos do cerrado do estado de Roraima capazes de nodular soja.

2.2 Específicos

- Isolar estirpes de bactérias capazes de nodular soja de solos coletados no cerrado de Roraima.
- Caracterizar fenotipicamente os isolados de *Bradyrhizobium* capazes de nodular soja.
- Avaliar a eficiência simbiótica de estirpes selecionadas de risórios em soja em condições de casa de vegetação.
- Avaliar a eficiência simbiótica de *Bradyrhizobium* selecionados isolados de solos de Roraima.
- Analisar a interação entre as estirpes de *Bradyrhizobium* em dois genótipos de soja.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A cultura da soja no Brasil e em Roraima

A soja é considerada uma das mais antigas plantas cultivadas no mundo, sendo citada na literatura chinesa como uma cultura que, possivelmente, tenha sido cultivada extensivamente, na China e Manchúria, aos 2.500 anos a.C. (MORSE, 1950). É um legume que cresce normalmente até cerca de um metro de altura, desenvolve-se em cachos com três a cinco vagens e cada vagem com dois, três ou mais grãos. A planta tem um sistema radicular que se estende por aproximadamente 1,5 metro, dando à planta boa resistência à seca.

A soja é hoje a leguminosa mais cultivada no Brasil, e isso é resultado dos programas de pesquisa que possibilitaram a expansão desta cultura pelo território nacional. A área plantada em 2011/12 é 1,9%, ou 453,7 mil hectares, superior à cultivada na safra anterior. Com a definição das áreas em praticamente todos os Estados, faltando apenas no Estado de Roraima, estima-se que a produção nacional na safra 2011/2012 será de 71,75 milhões de toneladas. Este resultado é 4,7%, ou 3,57 milhões de toneladas inferior a produção da safra anterior, quando foram colhidas 75,32 milhões de toneladas com uma produtividade de 3.106 Kg/ha⁻¹ (CONAB, 2012).

O desenvolvimento das lavouras na região Centro-Sul vem passando por situações distintas. Na região Sul, especificamente no estado do Rio Grande do Sul, a partir de meados de novembro/11, as condições climáticas desfavoráveis, como chuvas escassas e temperaturas elevadas, prejudicam o desenvolvimento da cultura, diminuindo o porte das plantas, isto justifica a redução de 15,6% prevista na produtividade em relação à safra passada. Para o Estado do Paraná, estima-se uma quebra de 10,7% e de 7,7% em Santa Catarina.

Na região Centro-Oeste, nos Estados de Mato Grosso e Goiás, as condições climáticas de modo geral, estão favorecendo as lavouras, porém houve estiagens em pontos isolados, causando perdas. No sudoeste do Estado de Mato Grosso do Sul, as poucas chuvas causam apreensão aos produtores. As plantas estão com porte abaixo do normal indicando uma produtividade menor. (CONAB, 2012)

Na região Norte-Nordeste, a região de maior produção denominada de MATOPIBA (sul do Maranhão, sul do Piauí, Tocantins e oeste da Bahia), predomina a fase de desenvolvimento vegetativo e as condições climáticas, até o momento, estão beneficiando as lavouras. (CONAB, 2012)

O estado de Roraima, localizado no hemisfério norte, é considerado área de expansão, que de acordo com calendário agrícola, o plantio é realizado nos meses de abril e maio. A produção da soja, ocupa uma área de 5 mil hectares, distribuídas entre seis produtores rurais. A produtividade média no estado de Roraima é 50 sacos por hectare do produto, superando a média nacional que é 45 sacas por hectare (CONAB, 2012).

Para Roraima, está disponível para cultivo na safra 2011/2012 10 cultivares, todas convencionais: BRS 219 (Boa Vista), BRS 252 (Serena), BRS Sambaíba, BRSGO Luziânia e BRSMA Pati, de ciclo precoce; BRS Carnaúba, BRS Tracajá e MG/BR 46 (Conquista), de ciclo médio; e BRS Candeia e BRS Raimunda, de ciclo tardio (EMBRAPA SOJA, 2010). Produtores de soja de Roraima, no entanto, têm cobrado da Embrapa a recomendação de cultivares de soja transgênica, tolerantes ao herbicida glifosato. Com o objetivo de atender a esse anseio dos produtores, foi selecionada a linhagem MABR03-2116, avaliada em Roraima em 2010, como a mais indicada para recomendação de cultivo no Estado. Essa linhagem foi lançada como cultivar pela Embrapa Soja em 2010, com o nome de BRS 333 RR, é de ciclo médio e apresentou rendimento médio de 4.111 kg ha⁻¹ na média de três ambientes de avaliação em Roraima no ano de 2010.

3.2 Nitrogênio

De acordo com Lopes (1989), o nitrogênio é um nutriente essencial à vida vegetal, pois se constitui de estruturas do protoplasma da célula, da molécula da clorofila, dos aminoácidos, proteínas e de várias vitaminas, além de influenciar as reações metabólicas das plantas; proporciona aumento do desenvolvimento vegetativo e do rendimento da cultura. O nitrogênio (N) constitui aproximadamente 78% da atmosfera terrestre, na forma molecular N₂, essencial à sobrevivência e crescimento dos organismos vivos (NEWTON, 2000). Porém, esse grande reservatório de nitrogênio não está diretamente disponível para todos os organismos eucariontes e para a maioria dos procariontes, pois moléculas de N₂ encontram-se unidas de maneira muito estável por uma tripla ligação, precisando, portanto ser convertido a uma forma assimilável por meio do fornecimento de temperatura (superior a 400 °C) e pressões (acima de 10⁷ pascal) obtidas por meio de derivados de petróleo, ou pela presença de um sistema enzimático apropriado, como é o caso da nitrogenase (FREIRE FILHO, LIMA e RIBEIRO, 2005; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

O nitrogênio é um dos nutrientes mais limitantes na produtividade de grãos. Estima-se que sejam necessários cerca de 240 kg de N para a produção de 3.000 kg ha⁻¹ de soja (HUNGRIA et al., 2001). As fontes de N capazes de suprir tal demanda restringem-se aos fertilizantes nitrogenados e pelo processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico. Considerando-se o baixo aproveitamento dos fertilizantes nitrogenados pelas plantas (em torno de 50%) seria necessária uma quantidade estimada de 480 kg em N para obtenção da produtividade de 3.000 kg ha⁻¹ (HUNGRIA et al., 1999; MERCANTE, 2005). Essa quantidade de nitrogênio seria equivalente a 1.067 kg de uréia, o que tornaria a cultura da soja, economicamente, inviável para o Brasil (MERCANTE, 2005).

As formas de nitrogênio mineral do solo influenciam negativamente a FBN e mostram efeito sobre diversos aspectos da simbiose leguminosa/rizóbio (STREETER, 1988; CHALK, 2000; SINCLAIR et al., 2001; SERRAJ; SINCLAIR, 2003). Altas concentrações de NH₄⁺ têm efeito negativo sobre número de peso de nódulos e atividade da nitrogenase em várias espécies de leguminosas (DART; WILDON, 1970; GUO, 1992). Além disto, existe a repressão da indução do gene regulatório *nodD* e genes *nodABC* são dependentes da concentração de amônio em *B. japonicum* (WANQ; STACEY, 1990). Exsudação de flavonóides responsáveis pela sinalização (CHO; HARPER, 1991; WOJTASZEK, 1993) e pela infecção das bactérias nas raízes (DAZZO; BRILL, 1978) também são afetados por NH₄⁺.

3.3 Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

A fixação biológica de nitrogênio é um processo realizado por microrganismo procariotos. Esses microrganismos possuem um complexo enzimático, denominado nitrogenase, capaz de quebrar a tríplice ligação do N₂, resultando na síntese de amônia (NH₃), que será disponibilizada, inicialmente, na forma de amônio (NH₄⁺). Estes são imediatamente incorporados em esqueletos de carbono para ser utilizado por determinadas plantas, suprimindo o N necessário ao desenvolvimento e à produtividade (FERGUSON et al., 2010).

Os microrganismos diazotróficos podem ser classificados como de vida livre, associados ou em simbiose com vegetais (HUNGRIA et al., 2006). No caso da soja e de outras leguminosas, há uma simbiose entre as bactérias e plantas que pode ser facilmente identificada, pois estruturas especializadas para o processo biológico, chamadas de nódulos

são formadas nas raízes, característica da simbiose (STOUGAARD, 2000; FERGUSON et al., 2010).

Dentre as vantagens obtidas pela FBN, destaca-se a economia no uso de fertilizantes nitrogenados. A inoculação das sementes de soja com bactérias específicas é comprovadamente eficiente e capaz de dispensar a aplicação de fertilizantes nitrogenados, proporcionando uma economia por ano para o país (HUNGRIA et al., 2007). Além disso, é uma prática ambientalmente segura, visto que uma parcela significativa dos fertilizantes nitrogenados aplicados é perdida através dos processos de lixiviação e desnitrificação (JENSEN; HAUGGAARD-NIELSEN, 2003).

Vários trabalhos de pesquisa em FBN têm ocorrido na busca de novas tecnologias de inoculação e de novas estirpes de bactérias que possam competir com as estirpes estabelecidas no solo na formação de nódulos. (CAMPO; HUNGRIA; TEDESCO, 2001; ZILLI; CAMPO; HUNGRIA, 2010).

Ao contrário, a aplicação de nitrogênio mineral em quantidade superior a 20 kg ha⁻¹ de N tende a inibir a formação de nódulos nas plantas. Experimentos conduzidos utilizando até 400 kg ha⁻¹ de N, divididos em dez aplicações durante o ciclo da cultura, não resultaram em aumento da produtividade (HUNGRIA et al., 2005). Segundo Moraes (2010), avaliando a fixação biológica do nitrogênio em genótipos de feijoeiros, os dados demonstraram que a fixação biológica de N₂ utilizando a inoculação de estirpes eficientes de *Rhizobium* em cultivar nodulante de feijoeiro ou seu cultivo em solos com população nativa eficiente, pode possibilitar a suplementação ou até mesmo a não utilização de nitrogênio em cobertura na cultura do feijoeiro, sem perdas no rendimento da produtividade.

A fixação biológica de nitrogênio tem por característica ser um sistema auto-regulado, isto é, a fixação cessa uma vez que há suficiente nitrogênio disponível no solo ou para a planta (DÖBEREINER, 1992).

Atualmente, são conhecidos 14 gêneros indicados como simbiote que nodulam leguminosas, como *Rhizobium* (FRANK, 1889), *Bradyrhizobium* (JORDAN, 1984), *Azorhizobium* (DREYFUS et al., 1988), *Sinorhizobium* (CHEN et al., 1988), *Mesorhizobium* (Jarvis et al., 1997), *Allorhizobium* (DE LAJUDIE et al., 1998), *Burkholderia* (MOULIN et al., 2001), *Methylobacterium* (SY et al., 2001), *Devosia* (RIVAS et al., 2002), *Ralstonia/Cupriavidus* (Chen et al., 2001) e *Ochrobactrum* (TRUJILLO et al., 2005).

A taxa de fixação varia com a espécie, mas é geralmente limitada pelas condições abióticas do solo, como: a acidez do solo (WOLFF et al., 1991; ANYANGO et al., 1995), o

tipo de solo, textura e composição (HEIJNEN et al., 1993), temperatura e umidade (WOLFF et al., 1991; HUNGRIA et al., 1993) e metais pesados (HIRSCH et al., 1993).

Entretanto, em condições favoráveis, inoculando com o rizóbio específico, corrigindo deficiências dos demais nutrientes e adequando a espécie às condições edafoclimáticas, altas taxas de fixação podem ser obtidas. Tradicionalmente, se tem dividido os rizóbios em grupos, de acordo com a velocidade de crescimento, como primeiro sugerido por Lonis; Hansen (1921), os de crescimento rápido (*Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*), crescimento intermediário (*Mesorhizobium*) e crescimento lento (*Bradyrhizobium*).

As bactérias pertencentes ao gênero *Rhizobium* são aeróbicas, gram negativas, usualmente produzem poli- β -hidroxibutirato, são móveis, temperatura ótima de crescimento entre 25-30 °C e pH 6-7. Algumas estirpes, porém, podem crescer em extremos de temperatura (4- 42,5 °C) e pH (4,5-9,5).

3.4 Bactérias recomendadas para cultura da soja

As bactérias que nodulam a soja foram classificadas, inicialmente, na espécie *Rhizobium japonicum* (FRED et al., 1932), posteriormente reclassificadas como *Bradyrhizobium japonicum* (JORDAN, 1982) e, dez anos depois, subdivididas nas espécies *B. japonicum* e *B. elkanii* (KUYKENDALL et al., 1992). No entanto, há uma grande variabilidade entre as estirpes que nodulam a soja, quanto à eficiência do processo simbiótico e à capacidade competitiva com bactérias estabelecidas no solo (ARAÚJO; HUNGRIA, 1999). Com o cultivo sucessivo da soja, as estirpes utilizadas nos inoculantes se estabeleceram no solo e, hoje, poucas são as áreas sem uma população rizobiana elevada. Hungria et al., (1994) constataram que os sorogrupos que dominam nos solos brasileiros são das estirpes SEMIA 566, SEMIA 5019 (=29W) e SEMIA 587, caracterizadas pela competitividade elevada.

Atualmente, as estirpes recomendadas para a cultura da soja são as SEMIA 587, SEMIA 5019 (=29 w), SEMIA 5079 (= CPAC 15) e SEMIA 5080 (=CPAC 7), introduzidas aos pares nos inoculantes comerciais (Reunião..., 1998). Essas estirpes são mais eficientes do que outras que foram introduzidas em inoculações realizadas nas décadas passadas e estão estabelecidas nos solos (RELARE, 1995; VARGAS; HUNGRIA, 1997).

A capacidade de fixação de N₂ sempre foi levada em consideração desde que se iniciou a produção da soja em escala comercial. Embora a indicação das estirpes para

inoculação seja baseada em estudos de seleção de estirpes de comprovada eficiência fixadora de nitrogênio, de permanência no solo e resistência a fatores limitantes, (VARGAS et al., 1994).

Em geral, ao serem comparados às estirpes parentais, os variantes apresentam alteração de importantes características simbióticas, que envolve desde a perda de infectividade (KUYKENDALL; ELKAN, 1976) a alterações na eficiência e potencial de competição por sítios nodulares (MULLEN; WOLLUM II, 1989). Contudo, tem sido observada a ocorrência de variantes com alta eficiência simbiótica e poder competitivo (PERES et al., 1984; SATO, 1995). Desta forma, acredita-se que estirpes do mesmo sorogrupo de reação ou variantes genéticos da mesma estirpe poderiam estar fazendo parte de um mesmo material biológico (MEYER; PUEPPKE, 1980; KOZUSNY-ANDREANI, 1997).

A relação simbiótica é específica, devido ambos, bactérias e plantas, fazerem uma troca de sinais moleculares que regulam a expressão de genes para a infecção e desenvolvimento dos nódulos (MÜLLER, 1981; HUNGRIA; VARGAS; ARAÚJO, 1997; LINCOLN; ZEIGER, 2004). Diante disso, vários trabalhos buscam a maximização da eficiência simbiótica na interação entre plantas de soja e estirpes de *Bradyrhizobium*, visando à obtenção de incrementos na produtividade da cultura (CAMPOS; LANTMANN, 1998; ARAÚJO; HUNGRIA, 1999; MOREIRA; CARVALHO; EVANGELISTA, 1999; MERCANTE, 2005; SOUZA et al., 2008).

Contudo, existe grande variabilidade entre as estirpes que nodulam a soja (Carvalho, 2003) quanto à eficiência do processo simbiótico (ARAÚJO; HUNGRIA, 1999), o que gera diferentes interações entre bactérias e genótipos de plantas de soja (BOHRER; HUNGRIA, 1998).

3.5 Cultivares de soja

As cultivares de soja possuem ciclos que podem variar de 75 a 200 dias, contados da emergência até a maturação. São reunidas em grupos de maturação, de acordo com ciclo, os quais são geralmente denominados como: precoces, semiprecoces, médios, semitardios e tardios. Contudo, em número de dias, esses grupos não são concordantes entre as cultivares e as diversas regiões de adaptação. Dessa forma, uma mesma cultivar pode alcançar diferentes ciclos, conforme as condições de manejo e, principalmente, das condições edafoclimáticas entre regiões distintas, notadamente no que diz respeito à latitude e à altitude (EMBRAPA,

2006). A maioria das cultivares adaptadas para as condições brasileiras apresentam ciclo de 90 a 150 dias (SEDIYAMA, 2009).

O cultivo da soja estende-se por várias regiões do Brasil, onde encontra considerável diversidade de ambientes. Como em outras espécies, as diferenças entre genótipos não são constantes sobre uma larga gama de ambientes (PINTO, 1995). Por isto, é necessária a identificação de cultivares de comportamento previsível e que sejam responsivas às variações ambientais, em condições amplas ou específicas (CRUZ; REGAZZI, 2001).

Resultado importante, obtido pelos melhoristas brasileiros, foi a identificação dos genes relacionados com o período juvenil longo da soja, que causam atraso na floração. Esta característica foi incorporada às cultivares, o que possibilitou o cultivo da soja em regiões de baixa latitude, principalmente nas áreas do Cerrado brasileiro (TOLEDO *et al.*, 1995). Deste modo a sojicultura conquistou as regiões Norte e Nordeste, abrindo novas áreas de cultivo a partir desta descoberta.

As cultivares convencionais, na grande maioria, são altamente sensíveis a mudanças entre latitudes ou datas de semeadura, em função das respostas às variações no fotoperíodo (HARTWIG; KIIHL, 1979; citado por BONATO; VELO, 1999). Assim, à medida que a soja é cultivada próximo à região do equador, onde a amplitude do dia mais longo e do dia mais curto é menor, o período do crescimento vegetativo é consideravelmente diminuído ocorrendo florescimento precoce e, conseqüentemente, reduções na produtividade (SEDIYAMA *et al.*, 2005). Dentre estes, o fotoperíodo exerce maior influência, pois as cultivares de hábito de crescimento determinado completam o seu ciclo de crescimento no início do florescimento (RODRIGUES *et al.*, 2001). Mesmo as cultivares insensíveis ao fotoperíodo para o florescimento têm sua altura influenciada pelo mesmo (GUIMARÃES *et al.*, 2008).

No Brasil, as áreas de soja são cultivadas em quase sua totalidade por cultivares de crescimento determinado, e suas adaptações a diferentes latitudes depende essencialmente do tempo necessário para que iniciem seu florescimento e, conseqüentemente, atinjam sua maturidade (EMBRAPA, 2003).

Costa (1996), citado por Pires *et al.* (2005), relata que um ideótipo desejável de planta de soja, para proporcionar rendimentos elevados de grãos, deve reunir: estatura de planta igual ou superior a 65,0 cm; inserção dos primeiros legumes superior a 10,0 cm; resistência a doenças, insetos, pragas, nematóides, acamamento e deiscência; boa qualidade fisiológica da semente; adaptação às condições locais de ambiente e sistema agrícola; alta capacidade de extração de fósforo; além de tolerância a deficiências e excessos hídricos.

Bohrer; Hungria (1998) verificaram diferenças marcantes entre as cultivares quanto ao potencial de nodulação e fixação de nitrogênio, e constataram que a quantificação da massa seca da parte aérea é um bom parâmetro para a seleção das simbioses mais promissoras de soja. O efeito da parte aérea e do sistema radicular sobre a nodulação de soja foram avaliados por Sheng; Harper (1997), os quais constataram que as folhas são órgãos que dominam a regulação da produção de sinal para nodulação em soja.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Isolamento, purificação e caracterização dos isolados

No mês de abril de 2009 foram realizadas as coletas de materiais para a pesquisa, em três áreas experimentais em Roraima: Fazenda produtora de soja no município de Alto Alegre, campo experimental Água Boa e do Monte Cristo (C.E.A.B e C.E.M.C), respectivamente, ambos no município de Boa Vista, no cerrado do estado de Roraima (Tabela 1). O solo foi coletado na profundidade de 0 – 20 cm em cada amostragem, sendo utilizadas 05 (cinco) amostras simples para totalizar uma amostra composta. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Roraima. O solo foi destorroado, peneirado e transferido para vasos com capacidade de 500 mL de solo. Para a obtenção dos isolados, foi utilizada a soja [*Glycine Max* (L) Merr.] cv. BRS Tracajá como planta isca.

Tabela 1. Descrição das áreas de coleta de solo para obtenção dos isolados de rizóbio.

Área	Local de coleta	Histórico da área	Total de isolados por área	Coordenadas
Área 1	A.E.A.A	2 Anos com Cultivo da Soja	25 isolados	N 02° 57' 12.3" W 61° 00' 04.1"
Área 2	A.E.A.A	3 Anos com Cultivo da Soja	25 isolados	N 02° 57' 02.0" W 61° 00' 06.3"
Área 3	A.E.A.A	1 Ano com Cultivo da Soja	25 isolados	N 02° 56' 24.8" W 61° 00' 14.8"
Área 4	A.E.M.C	Vários Cultivos com Soja (ultimo em 2006)	25 isolados	N 02° 56' 45.6" W 60° 42' 18.0"
Área 5	A.E.M.C	Solos Cultivados com Culturas Anuais, e Soja em 2008	25 isolados	N 02° 56' 56.1" W 60° 42' 27.9"
Área 6	A.E.M.C	Solos Cultivados com Culturas Anuais, e Soja em 2007	25 isolados	N 02° 56' 53.6" W 60° 42' 33.6"
Área 7	A.E.A.B	Área com 4 anos de Cultivo em 2005/2008	25 isolados	N 02° 40' 04.5" W 60° 50' 29.5"
Área 8	A.E.A.B	Área Apenas com um Cultivo em 2008	25 isolados	N 02° 40' 05.8" W 60° 50' 32.8"
Área 9	A.E.A.B	Área com 3 anos de Cultivo	25 isolados	N 02° 40' 07.4" W 60° 50' 32.5"
Área 10	A.E.A.B	Área Cultivada com Soja em 2004/2005	25 isolados	N 02° 40' 14.6" W 60° 50' 28.2"

O experimento ocorreu entre os meses de abril a maio de 2009, na sede da Embrapa Roraima, localizada na Rodovia BR-174 Km 8, Distrito Industrial em casa de vegetação.

Para plantio as sementes passaram por uma desinfestação (30 segundos em álcool a 70% e 5 minutos em hipoclorito de sódio a 2,5%, seguido de sucessivas lavagens com água destilada e autoclavada), em seguida semeadas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 10 tratamentos (procedência dos solos), em triplicata. O fornecimento de nutriente foi realizado por meio de solução nutritiva de Norris, semanalmente, e irrigação com água autoclavada quando necessário. Aos 35 dias após a emergência as plantas foram coletadas e as raízes separadas da parte aérea na altura do nó cotiledonar. Os nódulos foram destacados das raízes, lavados e colocados em recipientes contendo sílica gel, por um período máximo de uma semana.

De cada um dos 10 solos utilizados, 25 nódulos foram amostrados aleatoriamente para o isolamento das bactérias. Os nódulos foram hidratados por uma hora em água destilada e autoclavada, sendo posteriormente lavados com etanol comercial por 30 segundos (92.8°GL) para reduzir a tensão superficial em seguida desinfetados com hipoclorito de sódio a 1% por 5 min e lavados 10 vezes em água destilada e autoclavada. Todo o procedimento foi realizado na capela de fluxo horizontal.

Os nódulos desinfestados foram esmagados em placas de Petri contendo meio YMA com vermelho congo com auxílio de uma pinça e o conteúdo foi espalhado no meio com uma alça de platina. As placas foram incubadas a 28°C por seis dias. Após o aparecimento das colônias, as culturas foram repicadas para outra placa com meio de cultura YMA com azul de bromotimol e novamente incubadas na incubadora BOD, onde as placas foram observadas do primeiro dia após o plaqueamento até o aparecimento de colônias puras e isoladas, quando se procedeu à caracterização morfológica de acordo com as variáveis (NEDER, 1992):

- Velocidade de crescimento das colônias isoladas em dias;
- Tipo de alteração do pH do meio após crescimento (avaliado pela alteração de cor do indicador);
- Cor das colônias.
- Diâmetro das colônias (mm);
- Borda (inteira ou irregular);
- Aparência da colônia (homogênea ou heterogênea);
- Forma (circular ou irregular);

- Transparência (translúcida ou opaca);
- Muco (homogêneo ou heterogêneo);
- Elasticidade do muco (sem elasticidade ou com elasticidade);
- Tipo de muco (úmido ou seco).

4.2 Autenticação dos isolados obtidos em nodular soja

Após a avaliação das características morfofoculturais foi implantado um experimento em casa de vegetação na Embrapa Roraima entre os meses de junho a julho de 2009, para autenticação os isolados obtidos, foram utilizados como vasos, copos descartáveis com capacidade para 500 ml tendo como substrato uma composição de 50% de areia e 50% de vermiculita, ambos autoclavados. O plantio foi realizado conforme técnicas adotadas no primeiro experimento, a decorrer 3 dias do plantio realizou-se a inoculação das plantas com os 250 isolados obtidos dos solos coletados, além de quatro estirpes de *Bradyrhizobium* spp. recomendadas par a cultura da soja (SEMIA 5019, SEMIA 587, SEMIA 5079, SEMIA 5080) e as testemunhas com e sem nitrogênio.

O fornecimento de nutrientes seguiu o adotado no primeiro experimento, o tratamento nitrogenado recebeu 0,30 g de nitrato de amônia como fonte de nitrogênio.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com duas repetições. Após 35 dias após a emergência as plantas foram coletadas e as raízes separadas da parte aérea na altura do nó cotiledonar. Parte aérea foi colocada em saco de papel e levada para estufa de ventilação forçada, temperatura de 60° C durante 72 horas para secagem e em seguida pesadas para obtenção da massa seca da parte aérea. Os nódulos foram destacados das raízes, lavados, colocados em sacos de papel, secos em estufa de ventilação forçada e em seguida pesados e contados.

4.3 Ensaio de eficiência dos isolados capazes de nodular soja

A partir do experimento de autenticação, foram selecionados 40 isolados bacterianos que apresentaram maior capacidade de fixação biológica de nitrogênio para avaliação da eficiência simbiótica.

Entre os meses de abril a maio de 2010, na sede da Embrapa Roraima, foi realizado o experimento em condições controladas utilizando vasos de Leonard (VINCENT, 1970) tendo como substrato, areia e vermiculita (2:1) esterilizado em autoclave em 1,5 atm por 1 hora, semeado quatro sementes por vaso, para garantir duas plantas por vaso. Este experimento foi delineado em blocos ao acaso com três repetições.

A desinfestação das sementes, plantio, fornecimento de nutrientes e coleta das amostras foram realizadas conforme experimento anterior.

Os resultados foram analisados como auxílio do programa Sisvar (UFLA) sendo realizados os testes de distribuição normal dos erros e a análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Skot-Knott no nível de 5% de significância. O experimento foi observado do primeiro dia após o plantio até o dia da coleta para realização de uma triagem de bactérias.

Dos resultados obtidos neste ensaio foram selecionados os isolados para experimento com duas cultivares de soja em condições de casa de vegetação e de campo.

4.4 Eficiência simbiótica de isolados selecionados em duas cultivares de soja em casa de vegetação

O experimento ocorreu entre os meses de junho a julho de 2011, na sede da Embrapa Roraima. Adotou-se o delineamento em bloco ao acaso em fatorial de 2 x 5 com cinco repetições, o fatorial consistiu de duas cultivares de soja (BRS tracajá e BRS 333RR) cinco fontes de nitrogênio: inoculação com a estirpe SEMIA 5079 (*B. japonicum*), isolados ERR94, ERR148, sem inoculação e sem adubação nitrogênio e sem inoculação e com adubação nitrogenada.

A desinfestação das sementes, plantio foram realizados conforme item dos experimentos anteriores.

Após a germinação das sementes os tratamentos receberam a inoculação por meio de inoculante líquido preparados no laboratório de microbiologia do solo da Embrapa Roraima garantindo 600 mil unidades formadora de colônia.

O fornecimento de nutriente foi realizado por meio de solução nutritiva de Norris modificada, 0,3 litros por vaso semanalmente, e água quando necessário, o tratamento nitrogenado recebeu semanalmente 0,30 g de nitrato de amônio por vaso.

Após 35 dias da emergência as plantas foram coletadas e as raízes separadas da parte aérea na altura do nó cotiledonar. A parte aérea foi colocada em saco de papel e levada para estufa de ventilação forçada, temperatura de 60 °C durante 72 horas, para secagem e em seguida pesada para obtenção da massa seca da parte aérea. Os nódulos foram destacados das raízes lavadas colocados em sacos de papel, secos em estufa de ventilação forçada, temperatura de 60 °C durante 72 horas, em seguida pesados e contados. Além disso, também foi calculada a efetividade na FBN à produção de MSPA apresentada por cada estirpe (FERREIRA & MARQUES, 1992).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade com uso do programa SIRVAR. (FERREIRA, 2008)

4.5 Eficiência simbiótica de isolados selecionados com duas cultivares de soja em campo

O experimento foi realizado entre os meses de junho a outubro de 2011, no campo experimental Água Boa, da Embrapa Roraima com coordenadas 60°39'54"W, 02°15'00"N e, aproximadamente, 90 m de altitude.

O experimento foi conduzido em área de primeiro cultivo, preparada com antecedência, com incorporação da vegetação nativa por meio de utilização de grade aradora e com aplicação de 1.500 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT 80-85%), 90 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, 120 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio sendo 50% no plantio e 50% 30 dias após a emergência das plantas e 50 kg ha⁻¹ de FTE BR-12.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições, sendo os tratamentos os mesmos utilizados no experimento de casa de vegetação.

A semeadura da soja foi realizada de forma manual, preparando as linhas de plantio com auxílio de enxada, as parcelas foram constituídas de 10 linhas de 5 metros com espaçamento entre elas de 0,45 metros. Os inoculantes utilizados nos tratamentos com uso de inoculação foram preparados no laboratório de microbiologia do solo da Embrapa Roraima, sendo utilizado na inoculação 600 mil unidades formadoras de colônia. Em seguida as sementes foram semeadas nas linhas de plantio, com densidade de 15 sementes por metro linear.

A amostragem para avaliação da nodulação e parte aérea foi realizada aos 35 dias após a emergência das plantas, com a coleta de dez plantas de soja da segunda linha de plantio de

cada parcela, com isso foi avaliado o número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca parte aérea, nitrogênio total da parte aérea e eficiência relativa de cada tratamento.

Para o rendimento de grãos, foi realizada a colheita nas seis linhas centrais descartando-se 1 m no início e no final de cada fileira, totalizando uma área útil de 8,1 m². Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade com o uso do programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Isolamento e autenticação dos isolados obtidos

Após o isolamento e purificação dos isolados bacterianos, foi obtida uma coleção com 250 bactérias nodulantes de soja. Considerando toda a coleção, a maior parte dos isolados apresentou tempo de crescimento entre três e seis dias, com colônia de coloração branca, borda lisa, homogênea, circular e translúcida (Anexo 1). A maioria dos isolados, apresentou tempo de crescimento de intermediário a lento e reação alcalina no pH do meio de cultura, características típicas do gênero *Bradyrhizobium* que nodula abundantemente com soja e foi introduzido no Brasil desde a década de 1950 (JARDIM FREIRE; VERNETTI, 1999). Nenhum dos isolados obtidos no presente estudo apresentaram características a capacidade de acidificar o pH do meio de cultura. Isolado com estas características também são capazes de nodular com soja e diversos deles já foram isolados em solos do Brasil (HUNGRIA et al., 2001; HUNGRIA et al., 2006).

Outra característica da coleção que vale ser ressaltada é a elevada diversidade. Apesar de a maioria dos isolados apresentarem características compatíveis com aquelas apresentadas pelo gênero *Bradyrhizobium* a diversidade da coleção é muito grande, e muitos isolados não apresentam características similares às apresentadas pelas espécies *B. japonicum* ou *B. elkanii*, utilizadas para inoculação no Brasil. O isolamento e a caracterização de isolados bacterianos utilizando leguminosas de grão como planta isca no Brasil, tem revelado grande diversidade para isolados de feijão-caupi (ZILLI et al., 2004; SOARES et al., 2006a), feijão comum (HUNGRIA et al., 2000; Soares 2006b) e a própria soja (HUNGRIA et al., 2006). Avaliando a diversidade morfo-cultural de bactérias isoladas de diversas espécies de leguminosas na Amazônia, também têm sido constantemente encontrada elevada diversidade de rizóbios (HARA; OLIVEIRA, 2004; JESUS et al., 2005; CHAGAS JÚNIOR et al., 2009). Poucos trabalhos têm avaliado a diversidade fenotípica de isolados de soja oriundos de áreas amazônicas. Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que estas bactérias apresentam a elevada diversidade fenotípica, corroborando com resultados encontrados para outras leguminosas.

5.2 Avaliação da capacidade dos isolados obtidos em nodular soja

Após o ensaio inicial onde avaliou-se: número de nódulos, massa seca dos nódulos e massa seca da parte aérea dos 250 isolados pelo teste Skott-Knott. No nível de 5% de significância. Os quarenta isolados que proporcionaram melhor nodulação e acúmulo de massa seca, e que foram pelo menos igual às estirpes recomendadas. Os quarenta isolados que apresentaram os melhores desempenhos em casa de vegetação foram escolhidos para teste de eficiência.

5.3 Ensaio de eficiência dos isolados obtidos.

Dos 40 isolados testados, todos apresentaram número de nódulos estatisticamente igual ao apresentado pelas plantas inoculadas com as estirpes recomendadas para a inoculação de soja, sendo todos tratamentos inoculados estatisticamente superiores aos tratamentos sem inoculação (Tabela 2).

Tabela 2. Avaliação da eficiência simbiótica de 40 isolados selecionados capazes de nodular soja, isolados do cerrado de Roraima.

Fonte de nitrogênio	Número de nódulos (nódulos/planta)	Massa seca dos nódulos (g/planta)	Massa Seca da Parte Aérea (g/planta)
ERR60	59 a	0,68 a	6,00 b
ERR77	58 a	0,54 b	5,67 b
ERR90	56 a	0,52 b	5,34 b
ERR92	67 a	0,62 a	4,25 c
ERR94	50 a	0,56 b	6,12 b
ERR97	64 a	0,72 a	6,28 b
ERR102	70 a	0,75 a	5,26 b
ERR107	60 a	0,51 b	4,66 c
ERR108	52 a	0,70 a	4,23 c
ERR109	57 a	0,59 a	4,45 c
ERR117	69 a	0,71 a	5,09 b
ERR122	55 a	0,51 b	4,85 b
ERR124	60 a	0,62 a	4,22 c
ERR144	55 a	0,60 a	5,63 b
ERR147	58 a	0,54 b	4,58 c
ERR148	50 a	0,50 b	5,60 b
ERR149	61 a	0,63 a	3,95 c
ERR158	62 a	0,65 a	5,16 b
ERR161	68 a	0,50 b	4,67 c
ERR167	60 a	0,49 b	4,68 c
ERR169	69 a	0,72 a	3,58 c
ERR172	65 a	0,71 a	4,42 c

Fonte de nitrogênio	Número de nódulos (nódulos/planta)	Massa seca dos nódulos (g/planta)	Massa Seca da Parte Aérea (g/planta)
ERR173	63 a	0,46 b	3,53 c
ERR176	60 a	0,61 a	4,40 c
ERR177	52 a	0,43 b	3,20 c
ERR179	53 a	0,44 b	4,46 c
ERR183	51 a	0,50 b	4,22 c
ERR188	44 a	0,50 b	4,39 c
ERR199	60 a	0,74 a	5,58 b
ERR205	60 a	0,55 b	4,19 c
ERR206	67 a	0,67 a	5,35 b
ERR215	59 a	0,56 b	4,36 c
ERR216	56 a	0,53 b	5,27 b
ERR217	60 a	0,41 b	4,65 c
ERR218	60 a	0,45 b	5,08 b
ERR225	55 a	0,60 a	4,95 b
ERR228	60 a	0,63 a	6,01 b
ERR233	65 a	0,59 a	6,13 b
ERR234	74 a	0,66 a	5,34 b
ERR237	58 a	0,38 b	3,54 c
SEMIA 5079	54 a	0,52 b	5,03 b
SEMIA 5019	56 a	0,53 b	3,81 c
SEMIA 587	63 a	0,44 b	4,94 b
SEMIA 5080	55 a	0,38 b	4,56 c
Nitrogenada	0 b	0 c	11,65 a
Testemunha	0 b	0 c	0,95 d

Ao avaliar o parâmetro massa seca de nódulos, também foi possível observar que todos os tratamentos inoculados apresentaram maior massa seca de nódulos do que os tratamentos não inoculados (Tabela 2), porém neste parâmetro, os tratamentos inoculados não foram todos iguais entre si, apresentando dois grupos de médias. Sendo o grupo inferior com a média da massa seca de nódulos variando de 0,38 a 0,56 g/planta e o grupo de médias com valores superiores variando de 0,59 a 0,75 g/planta. Vale ressaltar que não houve diferença significativa dos isolados quando comparados com as quatro estirpes recomendadas para a produção de inoculantes para a soja no Brasil (SEMIA 587 e 5019 de *B. japonicum* e SEMIA 5079 e 5080 de *B. elkanii*) (Tabela 2), demonstrando o potencial dos isolados obtidos no presente estudo para a nodulação em soja, com destaque para o isolado ERR 102 que apresentou maior valor médio para este parâmetro.

Quanto à variável massa seca da parte aérea, o tratamento que apresentou maiores valores médios foi o que recebeu suplementação com nitrogênio mineral, diferindo de todos os demais tratamentos. Os tratamentos inoculados foram enquadrados em dois grupos de

médias pelo teste Skott-Knott (Tabela 2), sendo o grupo com menores valores médios variando de 3,20 a 4,68 g/planta e o grupo com maiores valores médios variando de 4,85 a 6,28 g/planta. Dentre os tratamentos inoculados com as estirpes recomendadas para a cultura da soja, os tratamentos inoculados com as estirpes SEMIA 5019 e SEMIA 5080 apresentaram igualdade estatística com os tratamentos que foram inoculados com os isolados obtidos neste estudo enquadrados no menor grupo de médias (Tabela 2), enquanto os tratamentos inoculados com as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 587 apresentaram valores médios para massa seca da parte aérea iguais aos tratamentos inoculados com os isolados obtidos no presente estudo com maiores valores médios (Tabela 2).

Em relação à variável massa seca da parte aérea cinco isolados promissores (ERR 60; ERR 94; ERR 97; ERR 148 e ERR 233) foram selecionados para futuros testes de campo e avaliações relacionadas às características genéticas dos isolados. Esses isolados proporcionaram produção de massa seca da parte aérea maior que 6 g por planta, sendo estatisticamente superiores a duas das estirpes recomendadas para a cultura (SEMIA 5080 e SEMIA 5019) (Figura 1).

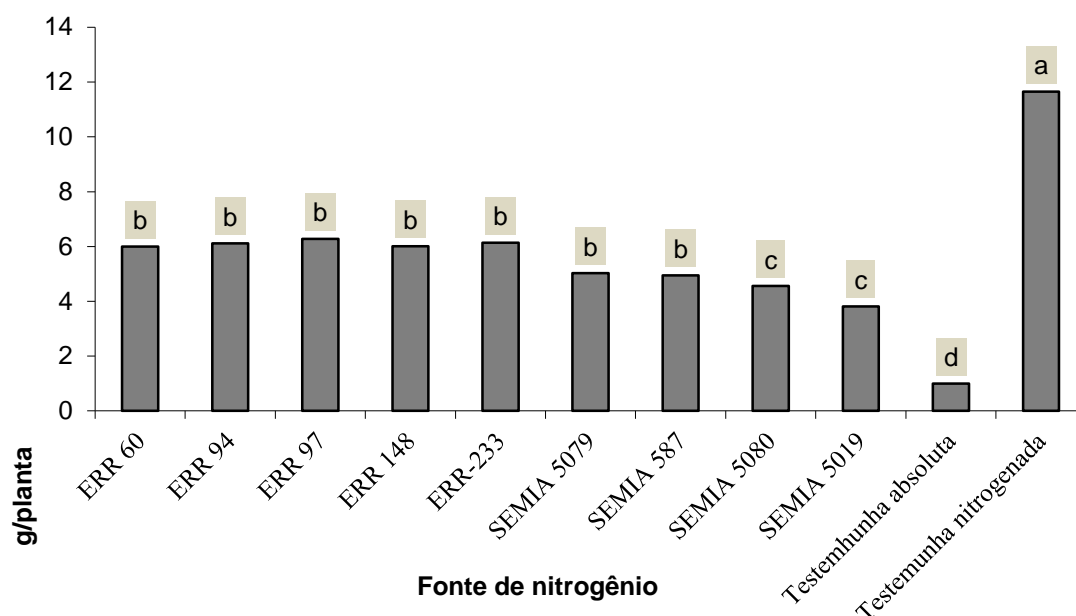


Figura 1. Massa seca da parte aérea de plantas de soja inoculadas com cinco isolados rizobianos obtidos no presente estudo além das 4 bactérias recomendadas para a produção de inoculantes para a cultura.

A eficiência de isolados de rizóbio em condições de casa de vegetação para diversas culturas têm sido demonstrada. Avaliando a seleção de isolados de rizóbio para feijão comum, Souza et al. (2003) demonstraram que alguns isolados em teste para o feijoeiro comum, obtidos anteriormente pelo grupo de pesquisa, apresentaram melhor desempenho que os isolados recomendados para a cultura. Outro estudo avaliando a eficiência de isolados de feijão-caupi em campo e em casa de vegetação demonstrou que as estirpes que se destacaram nas condições de casa de vegetação também se destacaram nas condições de campo (MELO; ZILLI, 2009). A partir desses resultados foram selecionadas duas bactérias ERR 94 e ERR 148.

5.4 Eficiência simbiótica de isolados selecionados com duas cultivares de soja em casa de vegetação

Com a avaliação da nodulação das plantas no ensaio de casa de vegetação pôde-se observar, que nos tratamentos que não receberam inoculação (controle sem inoculação) não houve formação de nódulos nas plantas (Tabela 3), o que mostra não ter havido contaminação com bactérias entre os tratamentos. Entre as estirpes avaliadas não foi observado diferenças significativas entre elas, tão pouco interação entre os tratamentos.

Tabela 3 - Médias de número de nódulos, massa de nódulos, massa seca parte aérea e eficiência nodular de plantas de soja, obtidas no experimento de casa de vegetação, 2012

	Número de nódulos/ planta				
	Testemunha	Nitrogenada	SEMIA 5079	ERR-148	ERR-94
BRS-333	0 Ab	0 Ab	42 Aa	44 Aa	48 Aa
BRS-Tracajá	0 Ab	0 Ab	46 Aa	49 Aa	48 Aa
Massa de Nódulos/ planta (mg)					
BRS-333	0 Ab	0 Ab	360 Aa	410 Aa	380 Aa
BRS-Tracajá	0 Ab	0 Ab	430 Aa	460 Aa	470 Aa
Massa seca parte aérea/ planta (g)					
BRS-333	1,45 Ac	2,42 Aab	2,18 Ab	2,12 Ab	2,90 Aa
BRS-Tracajá	1,68 Ab	2,62 Aa	2,19 Aab	2,48 Aa	2,45 Ba
Efetividade na fixação biológica de nitrogênio (%)					
BRS-333	0 Ac	100 Aab	75 Ab	69 Ab	149 Aa
BRS-Tracajá	0 Ab	100 Aa	54 Aa	85 Aa	81 Ba

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade.

Em trabalho realizado por Carvalho; Sealbach; Bizarro, (2005), avaliando as estirpes recomendadas para cultura da soja em condições de casa de vegetação, obteve média de número de nódulos de 56, 54 e 62 inoculadas com as estirpes SEMIA 5080, SEMIA 587 e SEMIA 5019, respectivamente, não diferindo entre si quanto a nodulação, redução significativa foi encontrada com a inoculação da estirpe BR 5079, que apresentou média de nodulação de 35 nódulos por vaso.

Bohrer; Hungria, (1998), avaliando as estirpes SEMIA 5019, SEMIA 566 e SEMIA 587, em 152 cultivares obtiveram média de número de nódulos de 49, 44 e 35, para as estirpes avaliadas respectivamente.

Os resultados iguais ou superiores justificam-se devido ao fato do experimento ter sido conduzido com substrato esterilizado, não sendo influenciado pelos fatores ambientais, da mesma forma, para a massa de nódulos também não houve diferença significativamente entre os tratamentos inoculados, tão pouca interação entre as estirpes e as cultivares avaliadas.

A resposta do número e a massa de nódulos secos obtidos nas plantas representam valores adequados para experimentos em condições controladas. Um número de nódulos superior a 20 por planta e massa superior a 100 mg por planta tem sido observado como suficiente para garantir o adequado desenvolvimento de plantas de soja (HUNGRIA et al., 2001).

Quanto à massa seca de parte aérea, observou-se que a cultivar BRS-333 quando inoculada com a bactéria ERR-94, apresentou produção de biomassa de 2,90 gramas por planta, superando massa seca do tratamento nitrogenado, que foi de 2,42. Para cultivar Tracajá, não houve diferença significativa entre os inoculantes avaliados igualando-se ao tratamento nitrogenado, sendo diferente significativamente do tratamento testemunha.

Carvalho; Sealbach; Bizarro, (2005), afirma que as estirpes recomendadas à cultura da soja não apresentam diferenças significativas para produção de matéria seca com produção de biomassa superior a 2g por planta.

Resultado contraditório foi encontrado por Bohrer; Hungria, (1998), que avaliando as estirpes SEMIA 5019, SEMIA 566 e SEMIA 587, em 152 cultivares, obteve massa seca de parte aérea inferior a 2 gramas por vaso.

Quando avaliada a interação das cultivares com as fontes de nitrogênio, observou-se diferença significativa quando a cultivar BRS-333 foi tratada com a bactéria ERR-94, sendo estatisticamente superior da cultivar Tracajá quanto às variáveis massa seca da parte aérea e efetividade na fixação biológica de nitrogênio.

Vale destacar que, as diferenças na matéria seca da parte aérea entre as cultivares, não podem ser atribuídas exclusivamente ao efeito das fontes de nitrogênio. Isso porque a produção de biomassa tende a variar de acordo com o potencial genético da planta (MELO; ZILLI, 2009).

A efetividade do processo simbiótico avaliada variou de 149% a 75% para a cultivar BRS-333 inoculada com a bactéria ERR-94 e a estirpe SEMIA 5079, respectivamente. Na cultivar BRS tracajá a variação foi de 85% a 54%, quando inoculada com a bactéria ERR-148 e a estirpe SEMIA5079, respectivamente, a estirpe ERR 148 foi superior na cultivar tracajá.

Pelo critério de Miranda (1995) que na seleção de estirpes de rizóbios devem-se escolher aquelas que promovam efetividade de pelo menos 70% em relação à testemunha com N-mineral, a fixação de N nas espécies estudadas foi efetiva, com exceção a bactéria ERR-148, quando inoculada na cultivar BRS-333.

Em trabalho realizado por Carvalho; Selbach; Bizarro, (2005), avaliando o índice de eficiência simbiótica, para as estirpes recomendadas para soja, foram obtidos valores inferiores a 60%.

5.5 Eficiência simbiótica de isolados selecionados com duas cultivares de soja em campo

Com relação ao número de nódulos pôde-se observar que a cultivar BRS 333 RR mostrou-se superior quando comparado com BRS Tracajá. A cultivar BRS- 333 RR, quando inoculada com as bactérias ERR148 e ERR 94, apresentaram número de nódulos superior aos demais tratamentos, (Tabela 4) superando a estirpe recomendada para cultura da soja, SEMIA 5079, em 51 e 43% respectivamente. Para cultivar BRS-tracajá não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados com média de 13 nódulos por planta.

Em trabalho realizado por Zilli; Campo; Hungria, (2010), avaliando a eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja, foram obtidos 24 nódulos por planta, para o ano de 2006, e 29, para o ano 2007, inoculadas com a estirpe SEMIA 5079. Estes valores são inferiores aos encontrados neste trabalho para a cultivar BRS-333 RR.

Foi observado a formação de nódulos nos tratamentos controle e nitrogenado, o que se deu pela população de rizóbios estabelecidas no solo ou por contaminação ocorrida devido ao escorrimento de água entre as parcelas inoculadas para as não inoculadas, uma vez que no início do desenvolvimento da cultura houve excesso de chuvas. A população de rizóbio no solo não foi estimada, porém, com base nos dados de nodulação observados no tratamento

controle do experimento é possível afirmar que, onde o experimento foi implantado, havia baixa população de rizóbio estabelecida.

Quanto à massa seca de nódulos, foi observado um aumento significativo nos tratamentos que receberam a inoculação com as bactérias ERR148 e ERR94, com médias superiores a 800 mg/planta para cultivar BRS 333 (Tabela 4). Para cultivar BRS Tracajá na, mesmo apresentando número de nódulos inferior aos encontrados pela cultivar BRS-333 na (Tabela 4), um incremento significativo foi observado na massa de nódulos. Em trabalho realizado por Zilli; Campo; Hungria, (2010), essa média ultrapassou a casa de 250 mg/planta.

Em relação à massa seca da parte aérea, de maneira geral, os tratamentos inoculados tendem a proporcionar um aumento da biomassa vegetal, quando comparado ao tratamento controle. Avaliando a cultivar BRS-333, foi observado diferença significativa quando inoculado com a bactéria ERR94 (9,8 g/planta), superando o tratamento Nitrogenado (8,8 g/planta). Para cultivar BRS tracajá, diferenças significativas foram observadas entre os tratamentos Nitrogenado, que se igualou aos tratamentos Semia 5079 e ERR 94, sendo estas ultimas similares ao tratamento ERR148 e esta similar ao tratamento controle. Interação entre as cultivares e as fontes de nitrogênio foram observadas, uma vez que, quando inoculadas com as estirpes ERR 148 e ERR 94, as cultivares BRS Tracajá e BRS 333 RR apresentaram resultados estatisticamente diferentes.

Tabelas 4 – Médias de número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e nitrogênio total obtidos das plantas coletadas no experimento conduzido no campo experimental Água Boa, pertencente a Embrapa Roraima 2012

	Número de nódulos				
	Testemunha	Nitrogenada	ERR-5079	ERR-148	ERR-94
BRS 333	6 Ac	17 Abc	35 Ab	71 Aa	61 Aa
BRS-Tracajá	6 Aa	9 Aa	9 Ba	16 Ba	15 Ba
Massa seca de Nódulos (mg/planta)					
BRS 333	101 Ac	172 Abc	435 Ab	811 Aa	869 Aa
BRS-Tracajá	148 Ab	189 Ab	297 Aab	517 Ba	518 Ba
Massa seca parte aérea (g)					
BRS 333	2,9 Ac	8,8 Aab	6,3 Ab	8,3 Aab	9,8 Aa
BRS-Tracajá	3,6 Ac	8,7 Aa	6,4 Aab	5,5 Bbc	6,8 Bab
Nitrogênio Total (mg planta ⁻¹)					
BRS 333	55,3 Ab	231,5 Aa	174,4 Aa	238,3 Aa	260,1 Aa
BRS-Tracajá	77,1 Ab	217,7 Aa	167,2 Aab	124,6 Bab	163,5 Bab

*Médias seguidas de mesmas letra maiúscula, na mesma coluna, e minúscula na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey no nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao acúmulo de N, embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre os tratamentos que receberam inoculação e o de adubação nitrogenada, para a cultivar BRS-333 inoculada com a estirpe ERR 94, houve aumento de 32% em comparação ao tratamento inoculado com a estirpe recomendada para a cultura, superando o tratamento nitrogenado em 10%. Para a cultivar BRS-Tracajá, os tratamentos inoculados não apresentaram diferenças significativas, com média de 151,7 mg planta⁻¹ de nitrogênio, esses tratamentos não superaram o tratamento nitrogenado, com média de nitrogênio total de 217,7 mg planta⁻¹.

Em trabalho realizado por Zilli; Campo; Hungria, (2010), foi observado nitrogênio na massa seca da parte aérea inferior a 140 mg planta⁻¹ quando inoculada com inoculante turfoso com a estirpe BR-5079.

Quanto a produtividade de grãos, não foi possível realizar esta avaliação. Pois no período houve uma estiagem prolongada que acabou prejudicando.

6 CONCLUSÃO

- Existe uma diversidade de isolados capazes de nodular soja.
- Estes isolados apresentam elevada diversidade fenotípica e eficiência na fixação biológica de nitrogênio em condições de casa de vegetação.
- Nos experimentos conduzidos em casa de vegetação e em campo, a estirpe ERR 94 mostrou-se igual ou superior à estirpe SEMIA 5079.
- Houve interação entre as cultivares e as estirpes de bactérias utilizadas neste trabalho.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov., from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Baltimore, v.47, n.4, p.996-1006, 1997.
- ANYANGO, B.; WILSON, K.J.; BEYNON, J.L.; GILLER, K.E. Diversity of rhizobia nodulating *Phaseolus vulgaris* L. in two Kenyan soils with contrasting pHs. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.61, n.11, p.4016-4021, 1995.
- ARATANI, R. et al. Adubação nitrogenada em soja na implantação do sistema plantio direto. **Selvíria**, MS: UNESP, 2002.
- ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.9, p.1633-1643, set. 1999.
- BOHRER, T. R. J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n.6, p.937-953, jun. 1998.
- BONATO, E. R.; VELLO, N. A. Aspectos genéticos do tempo para o florescimento em variantes naturais de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.6, p.988-993.1999
- CAMPOS, B. C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N₂ por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, n.3, p.583-592, 2001.
- CAMPOS, R. J.; LANTMANN, A. F. Efeitos de micronutrientes na fixação biológica do nitrogênio e produtividade da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.8, p.1245-1253, ago. 1998.
- CARVALHO, C. G. P.; ARIAS, C. A. A.; TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A.S.; OLIVEIRA, M. F.; HIROMOTO, D. M.; TAKEDA, C. Proposta de classificação dos coeficientes de variação em relação à produtividade e altura da planta de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, fev., v.38, n.2. 2003.
- CARVALHO, F. G.; SELBACH, P. A.; BIZARRO, M. J. Eficiência e competitividade de variantes espontâneas isolados de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. recomendadas para a cultura da soja (*Glycine Max*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, campinas, v.29, n.6, p.883-891. 2005.
- CHAGAS JÚNIOR; A.F.; OLIVEIRA, L.A.; OLIVEIRA, A.N. Tolerância à acidez e alumínio tóxico por isolados de rizóbios de solos no Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v.39. p.467-470. 2009.
- CHALK, P. M. Integrated effects of mineral nutrition on legume performance. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v.32 n.1, p.557. 2000.

- CHEN, W.; LAEVENS, S.; LEE, T.; COENYE, T.; VOS, P.; MERGEAY, M.; VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of Mimosa species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.1729-1735. 2001.
- CHEN, W.X.; TAN, Z.Y.; GAO, J.L.; LI, Y.; WANG, E.T. *Rhizobium hainanense* sp. nov., isolated from tropical legumes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.47, p.870-873. 1997.
- CHEN, W.X.; YAN, G.H.; LI, J.L. Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.38, p.392-397. 1988.
- CHO, M. J.; HARPER, J. E. Effect of inoculation and nitrogen on isoflavanoid Concentration in Wild-Type and Nodulation-Mutant Soybean Roots. *Plant Physiol.* v.95, n.1, p.435-441. 1991.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo levantamento, julho 2012 / **Companhia Nacional de Abastecimento**. – Brasília : Conab, 2012.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- DART, P. J.; WILDON, D. C. Nodulation and nitrogen fixation by *Vigna sinensis* and *Vicia autopurpurea*: the influence of concentration, form, and site of application of combined nitrogen. **Australian journal of Agricultural Research**. East Melbourne, v.21, n.1, p.45-56. 1970.
- DE LAJUDIE, P.; WILLENS, A.; NICK, G.; MOREIRA, F.; MOLOUBA, F.; HOSTE, B.; TORCK, N.; NEYRA, M.; COLLINS, M.D.; LINDSTROM, K.; DREYFUS, B. & GILLIS, M. Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. nov. *Inter. J. Syst. Bacteriol.*, v.48, p.369-382. 1998.
- DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: endophytic N₂ fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, v.44, p.310-313. 1992.
- DREYFUS, B.; GARCIA, J.L. & GILLIS, M. Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen. nov., sp. nov., a stem-nodulating nitrogen-fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v.38, p.89-98. 1988.
- ELKAN, G.H.; KUYKENDALL, L.D. Energy metabolism in *Rhizobium*. In: BROUGHTON, W.J. ed. **Ecology of nitrogen fixation**. Oxford: Oxford University Press. p.145-166. 1981.
- EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2011**. - Londrina: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010.

- EMBRAPA. **Sistema de produção 11**: Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil 2007. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2006, 225p.
- EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja** - Paraná - 2003/04. Londrina: Embrapa Soja, 2003, 218p. (Sistemas de Produção, 3).
- EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja**: região central do Brasil. Londrina, Embrapa Soja; Embrapa Cerrados; Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 280p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção 12).
- FARIAS J.R.B.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L. Soja, IN: MONTEIRO J.E.B.A. **Agrometeorologia dos cultivos**. Brasília. Instituto nacional de meteorologia – INMET. p.263-277. 2009.
- FERGUSON, B.J.; INDRASUMUNAR, A.; HAYASHI, S.; LIN, M.H.; LIN, Y.H.; REID, D.E.; GRESSHOFF, P.M. Molecular analysis of legume nodule development and auto regulation. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.52, p.61–76. 2010.
- Ferreira, E.M.; Marques, J.F..Selection of Portuguese *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii strains for production of legume inoculants. **Plant and Soils**, v.147, p.151–158. 1992.
- FRANK, B. Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. **Berichte Deutschen Bot. Gesellschaft**, v.7, p.332-346. 1889.
- FRED, E. B.; BALDWIN, I. L., MCCOY, E. Root nodule bacteria of leguminous plants. Madison: **University of Wisconsin in Press**. p.343.1932.
- FREIRE FILHO, F.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q; feijão- caupi; avanços tecnológicos. Brasília-Df; **Embrapa informação Tecnológica**. p.519. 2005.
- GUIMARAES, F. S.; REZENDE, P. M.; CASTRO, E. M.; CARVALHO, E. A.; ANDRADE, M. J. B.; CARVALHO, E. R. Cultivares de soja [*Glycinemax* (L.) Merrill] para cultivo de verão na região de Lavras-MG. **Ciência e Agrotecnologia**. v.32, n.4, p.1099-1106. 2008.
- GUO, R. Effect of four nitrogen compounds on nodulation and nitrogen fixation in faba bean, white lupin and medic. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v.19, n.5, p.501-508, 1992.
- HARA, F.A.S; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e alcalinos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazonica**, v.34, p.343–357. 2004.
- HEIJNEN, C.E.; BURGERS, S.C.G.E.; VAN VEEN, J.A. Metabolic activity and population dynamics of rhizobia introduced into unamended and biont-amended loamy sand. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, n.3, p.743-747, 1993.
- HIRSCH, P.R.; JONES, M.J.; McGRATH, S.P.; GILLER, K.E. Heavy metals from past applications of sewage sludge the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* populations. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford v.25, p.1485-1490, 1993.

- HUNGRIA, M. ;FRANCO, A. A.. Effects of high temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L.**Plant and Soil** (Print), Dordrecht, v.149, p.95-102. 1993.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; CHUEIRE, L.M.O.; MEGÍAS, M. Characterization of new efficient and competitive strains for the bean crop (*Phaseolus vulgaris* L.) crop in Brasil. In: MARTÍNEZ, E.; HERNÁNDEZ, G., eds. **Highlights of Nitrogen fixation research**, New York: Plenum Press, p.251-254. 1999.
- HUNGRIA, M.; BOHRER, T. R. J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soil**, London, v.3145-52. 2000.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; GRAHAM, P. H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in South America. In: SINGH, R. P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P. K. (Ed.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston: Studium Press, LLC, p. 43-93. 2006
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J. A fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30., 2005, Recife. **Anais**. Solos, sustentabilidade e qualidade ambiental. Recife: SBCS, URFPE, Embrapa Solos, 2005. 30p. (CD Rom).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; CHUEIRE, L.M.O.; GRANGE, L.; MEGIAS, M. Symbiotic effectiveness of fast-growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v.33, p.387-394. 2001.
- HUNGRIA, M.; CHUEIRE, L.M.O.; MEGIAS, M.; LAMRABET, Y.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MAÑERO, F.J.; CAMPO, R.J.. Genetic diversity of indigenous tropical fast-growing rhizobia isolated from soybean nodules. **Plant and Soil**, v. 288, p. 343-356, 2006.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio na soja. In: ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, p.9-89. 1994.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; ARAUJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro: In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M.; eds. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p.189-295. 1997.
- HUNGRIA, M; CAMPO RJ.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja; componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**, Londrina; Embrapa Soja. 48p. 2007. (Embrapa Soja. Documentos.283).
- JAMES, E.K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v.65, v.197- 209. 2000.

- JARDIM FREIRE, J.R.; VERNETTI, F.J.A. pesquisa com soja, a seleção de rizóbio e produção de inoculantes no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 5, p.117-126. 1999.
- JARVIS, B.D.W.; van BERKUM, W.X.; CHEN, S.M.; NOUR, M.P.; FERNANDEZ, J.C.; CLEYET-MAREL, J.C. & GILLIS, M. Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium mediterraneum* and *Rhizobium tiashanense* to *Mesorhizobium* gen. nov. **Inter. J. Syst. Bacteriol.** v.47. p.895-898, 1997.
- JENSEN, E.S; HAUGGAARD-NIELSEN, H. How can increased use of biological N₂ fixation in agriculture benefit the environment? **Plant and Soil**, v.252, p.177–186. 2003.
- JESUS, E.C.; MOREIRA, F.M.S.; FLORENTINO, L.A.; RODRIGUES, M.I.D.; OLIVEIRA, M.S. Diversidade de bactérias que nodulam sítio em três sistemas de uso da terra da Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40. p.769–776. 2005.
- JORDAN, D. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.32, n.2, p.136-139, 1982.
- JORDAN, D.C. Rhizobiaceae Conn 1938. In: KRIEG, N.R. & HOLT, J.D., eds. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London, Williams and Wilkins. p.234-244. 1984.
- KOZUSNY-ANDREANI, D.I. **Descrição de marcadores endógenos em *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* e utilização em estudos de competição em campo**. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, p.97. 1997. (Tese de Doutorado)
- KUYKENDALL, L. D.; SAXENA, B.; DEVINE, T. E.; UDELL, S. E. Genetic diversity in *Bradyrhizobium japonicum* Jordan 1982 and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii* sp. nov. **Canadian Journal of microbiology**, Ottawa, v.38, n.5, p.501-505. 1992.
- KUYKENDALL, L.D.& ELKAN, G.H. *Rhizobium* derivatives differing in nitrogen-fixing efficiency and carbohydrate utilization. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.32, p.511-519. 1976.
- LINCOLN, T.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p.95-112. 2004.
- LINDSTROM, K. *Rhizobium galegae*, a new species of legumes root nodule bacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Baltimore, v.39, n.3, p.365- 367. 1989.
- LOHNIS, F.; HANSEN, R. Nodule bacteria of leguminous plants. **Journal of Agronomy Research**, New York, n.5, p.543-556, 1921.
- LOPES, Alfredo Scheid. **Manual de Fertilidade do Solo**. Tradução e Adaptação: Alfredo Scheid Lopes. São Paulo: ANDA / POTAFÓS, p.155.1989.
- LUNGE, V. R. **Identificação de análise filogenética entre estirpes de *bradyrhizobium japonicum* por RFLP e RAPD**. 1993. 112 f. dissertação (mestrado) Programa de Pós

Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1993.

MARTÍNEZ-ROMERO, S. E.; MERCANTE, F.M., FRANCO; A.A.; GRAHAM, P.H.; PARDO, M. A. Rhizobium tropici, a novel species nodulating Phaseolus vulgaris L. beans and Leucaena sp. trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.41, p.417-426. 1991.

MELO, S.R.; ZILLI, J.E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1177-1183. 2009.

MERCANTE, F. M. **Uso de inoculante garante economia de três bilhões de dólares na cultura da soja no país. 2005.** Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2005/artigo.2005-12-05.0506770395/>>.

MEYER, M.C. & PUEPPKE, S.G. Differentiation of Rhizobium japonicum strain derivatives by antibiotic sensitivity patterns, lectin binding, and utilization of biochemicals. **Can. J. Microbiol.**, v.26, p.606-612. 1980.

MIRANDA, C.H.B. Eficiência em fixação de nitrogênio de estirpes de Bradyrhizobium sp. em Centrosema acutifolium. **R. Bras. Zootec.**, v.24(2), P.185-191. 1995.

MORAES, W. B.; MARTINS FILHO, S.; GARCIA, G. O.; CAETANO, S. P.; MORAES, W. B.; COSMI, F. C. Avaliação da fixação biológica do nitrogênio em genótipos de feijoeiros tolerantes a seca. **Idesia**, Arica, v. 28, n. 1, abr. 2010

MOREIRA, A.; CARVALHO, J. G.; EVANGELISTA, A. R. Influência da relação cálcio: magnésio do corretivo na nodulação, produção e composição mineral da alfafa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 2, p.249-255, fev. 1999.

MOREIRA, F.M.S; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2a ed. Lavras; UFLA, p.729. 2006.

MORSE, W.J. History of soybean production. In: MARKLEY, K.L. (Ed.). **Soybeans and soybean products**. New York: Interscience Publ. Inc., v.1, p.3-59. 1950.

MOULIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B. & BOIVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of the -subclass of proteobacteria. **Nature**, 411:948-950, 2001.

MULLEN, M.D. & WOLLUM II, A.G. Variation among different cultures of Bradyrhizobium japonicum strains USDA 110 and 122. **Can. J. Microbiol.**, v.35, p.583-588. 1989.

MÜLLER, L. Morfologia, anatomia e desenvolvimento. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C., (Eds). **A soja no Brasil**. 1 ed. P.65-104.1981.

NEDER, R.N. **Microbiologia: Manual de Laboratório**. São Paulo: Nobel, 1992.

- NEWTON W. E. Nitrogen fixation in perspective. in; PEDROSA , F. O; HUNGRIA M.; YATES,M.G.; NEWTON, W. (ed.) Nitrogen fixation; from Molecules To Crop Productivity, Kluwer Academic Publishers, **Dordrecht**. 2000.
- PEOPLES, M.B.; CRASWELL, e.t. biological nitrogen fixation: Investments, expectations and actual contributions to agriculture. **Plant and soil**, v.141, p.13-39. 1992.
- PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T. & SUHET, A.R. Variabilidade na eficiência em fixar nitrogênio entre isolados de uma mesma estirpe de Rhizobium japonicum. **R. Bras. Ci. Solo**, v.8, p.193-196. 1984.
- PINTO, R. J. B. **Introdução ao melhoramento genético de plantas**. Maringá: Eduem. 1995.
- PIRES, J. L. F.; COSTA, J. A.; RAMBO, L.; FERREIRA, F. G. Métodos para a estimativa do potencial de rendimento da soja durante a ontogenia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.40, n.4, Brasília Apr. 2005.
- RELARE. Reunião de laboratórios para recomendação de estirpes de Rhizobium Bradyrhizobium, 6. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO**, 3., Londrina, 1994. Anais. Londrina, IAPAR/EMBRAPACNPSO, p.475-489. 1995.
- REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 26. **Recomendações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e Santa Catarina 1998/99**. Cruz Alta, UNICRUZ, p.133.1998.
- RIVAS, R.; VELÁZQUEZ, E.; WILLEMS,A.; VIZCAÍNO, N.; SUBBA-RAO, N.S.; MATEOS, P.F.; GILLIS, M.; DAZZO, F.B.; MARTINEZ-MOLINA, E. A new species of Devosia that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume Neptunia natans (L.f) Druce. Appl. **Environ. Microbiol.**, v.68. p.5217-5222. 2002.
- RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; LHAMBY, J. C. B.; BERTAGNOLLI, P. F.; SILVA DA LUZ, J. Resposta quantitativa do florescimento da soja à temperatura e ao fotoperíodo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.3, p.431-437. 2001.
- RUMJANEK, N. G.; DOBERT, R. C.; VAN BERKUM, P.; TRIPLETT, E. W. Common soybean inoculant strains in Brazil are members of Bradyrhizobium elkanii. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, n.43, p.4371-4373, 1993.
- SATO, M. L.; GARCÍA-BLÁSQUEZ, C.; VAN BERKUM, P. Verification of strain identify in Brazilian soybean inoculants by using the polymerase chain reaction. **World Journal of Microbiology and Biotechnology, Philadelphia**, v.15, n.3, p.387-391, 1999.
- SATO, M.L. **Sobrevivência e estabilidade genética da SEMIA 587 de Bradyrhizobium japonicum submetida à liofilização**. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995. P.157. (Tese de Doutorado).
- SEDIYAMA, T. (Org.). **Tecnologias de produção e usos da soja**. 1. ed. Londrina, PR: Mecenaz, v.1, p.314. 2009.

- SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R de C.; REIS, M. S. Melhoria da Soja. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, p. 553-604. 2005.
- SEGOVIA, L. YOUNG, J.P.W.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains in a new species, *Rhizobium etlisp. nov.* **International Journal of Systematic Bacteriology**, Baltimore, v.43, n.2, p.374-377. 1993.
- SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Evidence that carbon dioxide enrichment alleviates, ureide-induced decline of nodule nitrogenase activity. **Annals of botany**, Oxford, v.91, n.1, p.85-86, 2003.
- SHENG, C.; HARPER, J.E. Shoot versus root signal involvement in nodulation and vegetative growth in wild-type and hypernodulating soybean genotypes. **Plant Physiology**, v.11 n.3, p.825-831. 1997.
- SINCLAIR, T. R.; PURCELL, L. C.; VADEZ, V.; SERRAJ, R.; KING, C. A.; NELSON, R. Identification of soybean genotypes with N₂ fixation tolerance to water deficits. **Crop Science**, Madison, v.40, n.6.p 1803-1809, 2001.
- SOARES, A. L. L.; FERREIRA, P. A. A.; PEREIRA, J. P. A. R.; VALE, H. M. M.; LIMA, A. S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG): II - feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.803-811. 2006.
- SOARES, A. L. L.; PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P. A. A.; VALE, H. M. M.; LIMA, A. S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em perdões (MG): I - caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.795-802. 2006.
- SOUSA, P. M.; MOREIRA, F. M.M. inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio. Alternativa para aumentar a produtividade do caupi na agricultura familiar de Confresa, Mato Grosso, in: RELARE, XIV, 2008, Bonito, **Anais**, Bonito; Embrapa Agropecuária Oeste, p.16. 2008.
- SOUZA, M.F.M.; VALE, H.M.M.; STRALIOTTO, R. Competitividade de estirpes pertencentes a diferentes espécies de rizóbio para ocupação nodular em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Agronomia**, v.37, p.59-63. 2003.
- STOUGAARD, J. Regulators and Regulation of Legume Root Nodule Development **Plant Physiology**, Minneapolis, v.124, p.531-540. 2000.
- STREETER, J. Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate. **CRC Critical Reviews in Plant Sciences**, Oxford, v.7, n.1, p.1-23. 1988.
- SY, A.; GIRAUD, E.; JOURAND, P.; GARCIA, N.; WILLEMS, A.; DE LAJUDIE, P.; PRIN, Y.; NEYRA, M.; GILLIS, M.; BOIVIN-MASSON, C. & DREYFUS, B. Methylo trophic Methylo bacterium bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**. 183:214-220, 2001.

- TOLEDO, J.F.F. et al. Genetics and breeding. In: Tropical Soybean: improvement and production. E. Kueneman (ed). **FAO - Plant Production and Protection Series No. 27.** Rome, Italy. p.19-36.1995.
- TRUJILLO, M.E.; WILLEMS, A.; ABRIL, A.; PLANCHUELO, A.M.; RIVAS, R.; LUDENA, D.; MATEOS, P.F.; MARTINEZ-MOLINA, E. & VELASQUEZ, E. Nodulation of *Lupinus albus* by Strains of *Ochrobactrum lupine*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.71, p.1318-1327. 2005.
- VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; MENDES, I. C. **Fixação biológica de nitrogênio em solos de cerrados.** Brasília: EMBRAPA-SPI. p.83. 1994.
- VARGAS, M.A.T. e HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados.** Embrapa. planaltina. p.524. 1997.
- VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria.** Oxford: Blackwell Scientific, p.164.1970.
- WANG, S. P.; STACEY, G. Ammonia regulation of nod genes in *Bradyrhizobium japonicum*. **Molecular and General Genetics**, Berlin, v.223, n.1, p.329-331, 1990.
- WOJTASZEK, P. Role of nitrogen and plant growth regulators in the exudation and accumulation of isoflavonoids by roots of the intact White lupin (*Lupinus albus* L.) plants. **Journal of Plant Physiology**, London, v.142, n.1, p.698-694, 1993.
- WOLFF, A.B.; STREIT, W.; KIPE-NOLT, J.A.; VARGAS, H.; WERNER, D. Competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* strains in relation to environmental stress and plant defense mechanisms. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.12, n.3, p. 170-176. 1991.
- XU, L.M.; GE, C.; CUI, Z.; LI, J.; FAN, H. *Bradyrhizobium liaoningensis* sp. nov. isolated from the root nodules of soybean. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Baltimore, v.45, n.4, p.706-711. 1995.
- ZILLI, J.E.; VALISHESKI, R.R.; FREIRE FILHO, F.R.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Assessment of cowpea rhizobium diversity in Cerrado areas of Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.281-287. 2004.
- ZILLI, J. É.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (1977. Impressa), v.45, p.335-337. 2010.

8 ANEXO

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR46	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Bege	Heterogênea	Não	Úmido
ERR47	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR48	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR49	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR50	5 dias	Alcalino	<1 mm	Irregular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR51	5 dias	Alcalino	<1 mm	Irregular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR52	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR53	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR54	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR55	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR56	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR57	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR58	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR59	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR60	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR61	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR62	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR63	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR64	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR65	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR66	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR67	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR68	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR69	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR70	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR71	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR72	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR73	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR74	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR75	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR76	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR77	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR78	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR79	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR80	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR81	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR82	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR83	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR84	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR85	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR86	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR87	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR88	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR89	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR90	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR91	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR92	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR93	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR94	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR95	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR96	7 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR97	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR98	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR99	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR100	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR101	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR102	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR103	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR104	7 dias	Alcalino	2 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR105	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR106	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR107	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR108	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR109	7 dias	Alcalino	2 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR110	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR111	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR112	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR113	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR114	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR115	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR116	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR117	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR118	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR119	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR120	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR121	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR122	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR123	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR124	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR125	6 dias	Alcalino	2 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR126	6 dias	Alcalino	>1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR127	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR128	6 dias	Alcalino	>1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR129	6 dias	Alcalino	2 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR130	6 dias	Alcalino	2 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR131	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR132	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR133	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR134	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR135	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR136	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR137	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR138	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR139	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR140	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR141	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR142	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR143	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR144	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR145	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR146	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR147	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR148	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR149	7 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR150	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR151	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR152	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR153	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR154	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR155	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR156	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR157	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR158	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR159	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR160	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR161	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR162	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR163	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR164	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR165	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR166	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR167	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR168	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR169	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR170	5 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR171	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR172	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR173	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR174	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR175	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR176	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR177	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR178	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR179	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR180	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR181	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR182	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR183	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR184	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR185	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR186	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR187	6 dias	Alcalino	<1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR188	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR189	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR190	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR191	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR192	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR193	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR194	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR195	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR196	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR197	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR198	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR199	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR200	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR201	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR202	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR203	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR204	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR205	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR206	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR207	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR208	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR209	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR210	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR211	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR212	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR213	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR214	5 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR215	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR216	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR217	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR218	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR219	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR220	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR221	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR222	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR223	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR224	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR225	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR226	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR227	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR228	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR229	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR230	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR231	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR232	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR233	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR234	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR235	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR236	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR237	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR238	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR239	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR240	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR241	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR242	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR243	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR244	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR245	3 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR246	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR247	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR248	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR249	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR250	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR251	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR252	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR253	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR254	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR255	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR256	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR257	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR258	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR259	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR260	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR261	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR262	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR263	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR264	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR265	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR266	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR267	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR268	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR269	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR270	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR271	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR272	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR273	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR274	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR275	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR276	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR277	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR278	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR279	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR280	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR281	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR282	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR283	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR284	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR285	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR286	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR287	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR288	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Convexa	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR289	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido

Microrganismo	Tempo de crescimento	pH	Tamanho da colônia	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda	Transparência da Colônia	Aparência da Colônia	Cor da Colônia	Aparência do Muco	Elasticidade do muco	Tipo do Muco
ERR290	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Heterogênea	Não	Úmido
ERR291	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR292	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR293	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR294	4 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Sim	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido
ERR295	6 dias	Alcalino	1 mm	Circular	Elevada	Lisa	Não	Homogênea	Branca	Homogênea	Não	Úmido