



***Protocolo da Embrapa Agrobiologia para Produção de
Inoculante para Leguminosas***



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Agrobiologia

Ministério da Agricultura e do Abastecimento

República Federativa do Brasil

Presidente

Fernando Henrique Cardoso

Ministério da Agricultura e do Abastecimento

Ministro

Marcus Vinicius Pratini de Moraes

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Diretor Presidente

Alberto Duque Portugal

Diretores

Elza Ângela Battaggia Brito da Cunha

Dante Daniel Giacomelli Scolari

José Roberto Rodrigues Peres

Embrapa Agrobiologia

Chefe Geral

Maria Cristina Prata Neves

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Sebastião Manhães Souto

Chefe Adjunto Administrativo

Vanderlei Pinto

DOCUMENTO Nº 97

ISSN 0104-6187

Dezembro 1999

***Protocolo da Embrapa Agrobiologia para Produção de
Inoculante para Leguminosas***

Johanna Döbereiner

Vanderlei de Oliveira Andrade

Ivan Alcântara

Seropédica – RJ

1999

Exemplares desta publicação podem ser solicitadas à:

Embrapa Agrobiologia

Caixa Postal: 74505

23851-970 – Seropédica – RJ

Telefone: (021) 682-1500

Fax: (021) 682-1230

e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Expediente:

Revisor e/ou ad hoc: Ivan Alcantara

Tiragem: 50 exemplares

Comitê de Publicações: Sebastião Manhães Souto (Presidente)

Johanna Döbereiner

José Ivo Baldani

Norma Gouvêa Rumjanek

José Antônio Ramos Pereira

Robert Michael Boddey

Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Coordenação Editorial: Érica Cruz Rosas de Oliveira

DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V.O. de; ALCÂNTARA, I. **Protocolo da Embrapa Agrobiologia para Produção de Inoculante para Leguminosa**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dezembro. 1999. 6p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 97).

ISSN 0104-6187

1. Leguminosa. 2. Inoculante. 3. Produção. I. Döbereiner, J., colab. II Andrade, V.O. de, colab. III Alcântara, I., colab., IV. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). V. Título. VI. Série.

CDD 583.74

SUMÁRIO

1. OBJETIVO.....	4
2. MATERIAL NECESSÁRIO.....	4
2.1 REAGENTES.....	4
2.2 VIDRARIA E OUTROS.....	4
3. PROCEDIMENTO.....	5
3.1 CRESCIMENTO DE BACTÉRIA.....	5
3.2 PREPARO DO INOCULANTE.....	6
3.3 PARA CRESCER GRANDES QUANTIDADES DE INÓCULO.....	6
4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	6

Protocolo da Embrapa Agrobiologia para Produção de Inoculante para Leguminosas

Johanna Döbereiner¹
Vanderlei de Oliveira Andrade²
Ivan Alcântara³

1. OBJETIVO

Preparar inoculante para leguminosa, multiplicando-se bactérias fixadoras de nitrogênio (Rhizobium).

2. MATERIAL NECESSÁRIO

2.1 Reagentes

- Substrato de turfa (Ver PO 12.094);
- Meio de Cultura 79
- Extrato de Levedura semi-sólido (Ver PO 12.023);
- Cultura puras das estirpes de rizóbio.

2.2 Vidraria e Outros

- Agitador magnético;
- Dispersor automático;
- Panela de pressão;
- Agitador rotativo;
- Estufa de esterilização Pró-pipeta;
- Alça de platina;
- Balança analítica;
- Seringa automática;

¹ Pesquisadora, Embrapa Agrobiologia, Caixa Postal 74505, CEP 23.851-970, Seropédica - RJ

² Assistente de Operação II, Embrapa Agrobiologia, Caixa Postal 74505, CEP: 23.851-970, Seropédica

³ Auxiliar de Operação II, Embrapa Agrobiologia, Caixa Postal 74505, CEP: 23.851-970, Seropédica

- Autoclave;
- Barra magnética;
- Tripé para bico de bunsen;
- Bico de bunsen;
- Seladora para plásticos;
- Grade para tubos de ensaio;
- Capela de exaustão;
- Capela de fluxo laminar;
- Seringa;
- Proveta;
- Pipeta sorológica;
- Tubo de ensaio;
- Caixa para embalagem de inoculante;
- Saco de polipropileno;
- Tubo de ensaio rosqueável;
- Folheto de instruções de como usar o inoculante ;
- Etiquetas auto colantes.

3. PROCEDIMENTO

3.1 Crescimento de Bactéria

- Usar culturas puras das estirpes de rizóbio indicadas para a espécie leguminosa a ser inoculada.
- Repicar para o meio de cultura (meio cultura 79), com extrato de levedura semi-sólido.
- Colocar em agitador à temperatura de 30 °C por 3 dias se a estirpe for de crescimento rápido ou 10 dias se for de crescimento lento.
- Crescer as estirpes em frascos isolados e só misturar na hora de adicionar à turfa.

3.2 Preparo do Inoculante

- Misturar as culturas das estirpes indicadas para cada espécie leguminosa, injetar 70ml desta mistura nos sacos contendo 150g de turfa esterilizada, que foi previamente preparada.
- Misturar até que a turfa fique úmida (apertando o inoculante com força não deve escorrer líquido).
- O Inoculante terá, a partir desta data, 6 meses de validade e deverá ser guardado, de preferência, em geladeira ou em lugar fresco e sombreado.
- Proceder a análise do número de células viáveis de Rhizobino para atestar a qualidade do inoculante.

3.3 Para Crescer Grandes Quantidades de Inóculo

- Fazer por etapas usando pelo menos um volume de inóculo que corresponda a 10% do volume final do meio de cultura a ser inoculado.

4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

PEIXOTO, R.C. **Manual de Boas Práticas para Laboratório**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, mar. 1999. 52p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 87).

Protocolo Operacional para preparação de Extrato de Levedura (P.O. 12.023).