



**PROTOCOLO DA EMBRAPA AGROBIOLOGIA PARA
CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA DE BACTÉRIAS
DIAZOTRÓFICAS A PARTIR DE ENSAIOS DO USO DE FONTES
DE CARBONO**



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 Prantini 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 103

ISSN 0104-6187

Dezembro 1999

**Protocolo da Embrapa Agrobiologia para Caracterização
Fisiológica de Bactérias Diazotróficas a partir de Ensaio com
Uso de Fontes de Carbono**

Vera Lúcia Divan Baldani

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: Bruno José Rodrigues Alves

Normalização Bibliográfica/Confecção/Padronização: Dorimar dos Santos Felix

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)

Coordenadora Editorial: Érica Cruz Rosas de Oliveira

BALDANI, V.L.D. **Protocolo da Embrapa Agrobiologia para Caracterização Fisiológica de Bactérias Diazotróficas a partir de Ensaio do Uso de Fontes de Carbono.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 99. 5p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 103).

ISSN 0104-6187

1. Bactéria. 2. Diazotrófico. 3. Carbono. I. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). II. Título. III. Série.

CDD 579.3

SUMÁRIO

1. OBJETIVO.....	4
2. MATERIAL NECESSÁRIO.....	4
2.1 REAGENTES, SOLUÇÕES E MEIOS DE CULTURA.....	4
2.2 EQUIPAMENTOS E VIDRARIA.....	4
3. PROCEDIMENTO.....	5
4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	5

Caracterização Fisiológica de Bactérias Diazotróficas a partir de Ensaio com Uso de Fontes de Carbono

Vera Lúcia Divan Baldani ¹

1. OBJETIVO

Quantificar as bactérias diazotróficas presentes em amostras de tecido vegetal do solo de acordo com a sua fisiologia

2. MATERIAL NECESSÁRIO

2.1 Reagentes, Soluções e Meios de Cultura

- Reagentes (ver Manual de Soluções e Reagentes – Embrapa CNPAB, documento 86);
- Meios de Cultura (ver Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia – Embrapa CNPAB, documento 110).

2.2 Equipamentos e Vidraria

- Câmara de crescimento;
- Pipetador automático;
- Tubos com vol. de 25 ml;
- Vidros de penicilina com volume variado de 10 a 15 ml.

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

3. PROCEDIMENTO

- Crescer isolados num meio de cultura rico (consulte seu orientador) qualquer durante 48 hs. Este será o pré-inóculo.
- Escolher o meio mínimo o qual se isolou a bactéria utilizando apenas os sais do meio.
- Dissolver a fonte de carbono em tampão fosfato 0,5M e adicionar, posteriormente (após a autoclavagem do meio) por filtração. Pode-se utilizar em preparações líquidas ou semi-sólidas.
- No caso do uso de meio líquido é preciso usar uma fonte de N que pode ser o cloreto de amônio (1g/l) ou sulfato de amônio (1 mM).
- A inoculação se procede pela transferência das células através do uso de pipetador automático. No caso do meio líquido é necessário o ajuste da densidade ótica inicial.
- Após o tempo que pode variar, dependendo da bactéria testada, é só fazer a medida do crescimento: densidade ótica a 560 nm para meio líquido e presença de película para semi-sólido ou mesmo redução de acetileno.

4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BALDANI, V. L. D.; ANDRADE, V.O.; NEVES, M.C.P.; BARBOSA, A. L., PEIXOTO, R. C.; OLIVEIRA, E.C.R. **Manual de Soluções e Reagentes da Embrapa Agrobiologia**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 1999. 16p. (Embrapa CNPAB. Documentos, 86).

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