

**Documentos**

**ISSN 0104-6187**

**Número, 103**

**Dezembro/1999**



**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](mailto: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*<sup>1</sup>

## **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.

---

<sup>1</sup> 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).