

# Workshop para Avaliadores de Laboratórios e Especialistas voltados à Agricultura e Pecuária Programa MAPA

## Inoculantes

MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

Mirian de Freitas Borges  
Laboratório de Microbiologia Agrícola/Lanagro-SP

# Inoculantes

Decreto 4.954 (2004), Art. 2º, inciso V

Produto que contém microrganismos com atuação favorável ao crescimento de plantas, entendendo-se como:

suporte: material excipiente e esterilizado, **livre de contaminantes segundo os limites estabelecidos**, que acompanha os microrganismos e tem a função de suportar ou nutrir, ou ambas as funções, o crescimento e a sobrevivência destes microrganismos, facilitando a sua aplicação; e

pureza do inoculante: ausência de qualquer tipo de microrganismos que não sejam **os especificados**;



Líquidos



Sólidos

# Importância

Tecnologia estratégica que destaca o Brasil no cenário mundial

Integralmente alinhada com a Missão do MAPA → agricultura sustentável

Destaque - Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN)



Soja  
estirpes Rhizobium conseguem fornecer **todo** o nitrogênio requerido pela cultura, resultando em uma **economia estimada em US\$ 13 bilhões anuais**, que deixam de ser gastos com fertilizantes nitrogenados (Hungria, 2018).

Legislação - participação ativa da pesquisa, indústrias e MAPA  
(Relare – Rede de Laboratórios para a recomendação de estirpes de Rhizobium).

# Controle Oficial

Estabelecimento de padrões mínimos e fiscalização da produção, garantindo produtos de qualidade que promovam os ganhos esperados



Aumento da confiança na tecnologia e ampliação do uso



## Estratégia de sustentabilidade

Diminuição drástica da aplicação de fertilizantes químicos na agricultura



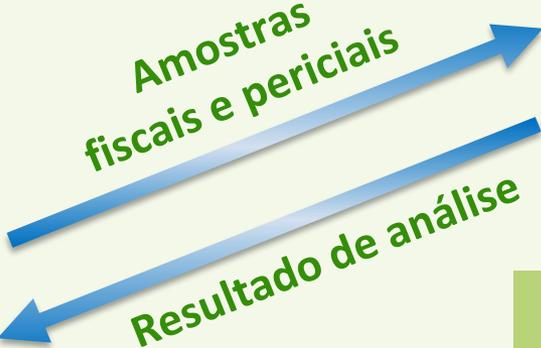
MAPA  
SDA

DFIA  
CFIC

CGAL

Análise de  
inoculantes

Fiscalização  
de  
Inoculantes



Laboratório de Microbiologia  
Agrícola - MAG/Slav/Lanagro-SP  
  
Laboratório credenciado  
**Agronômica**

# Legislação

**Lei nº 6.894 (16/12/1980)** e alteração Lei nº 6.934 (13/07/1981)

Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, **inoculantes**, estimulantes ou biofertilizantes e dá outras providências.

**Decreto nº 4.954 (14/01/2004)** e alteração Decreto nº 8.059 (26/07/2013) Aprova o Regulamento da Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980

**Instrução Normativa MAPA nº 53 (23/10/2013)**

Dispõe sobre classificação/registros, embalagem/rotulagem/propaganda/prestação de serviço, procedimentos inspeção/fiscalização da produção, importação, exportação e comércio de fertilizantes, corretivos, **inoculantes**, biofertilizantes e materiais secundários.

**Instrução Normativa SDA nº 13 (24/03/2011)**

Aprovar as normas sobre especificações, **garantias**, registro, embalagem e rotulagem dos **inoculantes** destinados à agricultura, bem como as **relações dos micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil**.

**Instrução Normativa SDA nº 30 (12/11/2010)** e alteração IN nº 14 (13/04/2018)

Estabelece os métodos oficiais para análise de **inoculantes (concentração, identificação e análise de pureza)**.

# Legislação

## Instrução Normativa SDA nº 13/ 2011

### Anexo I

Normas sobre **ESPECIFICAÇÕES, GARANTIAS**, REGISTRO, EMBALAGEM e ROTULAGEM dos inoculantes

**Art. 1º** Os inoculantes produzidos, importados ou comercializados no país, de acordo com as suas características e para fins de registro, deverão observar as seguintes condições e especificações:

I - os produtos que contenham bactérias fixadoras de nitrogênio para simbiose com leguminosas deverão apresentar **concentração mínima de  $1,0 \times 10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama ou mililitro de produto**, mantendo a garantia registrada até a data de seu vencimento. Tolerância até **20%** (vinte por cento)

# Legislação

## Instrução Normativa SDA nº 13/ 2011

Art. 1º ...

II - para os *demais inoculantes*, formulados com bactérias associativas e micro-organismos promotores de crescimento de plantas, a *concentração* de micro-organismos será a *informada* no processo de *registro* do produto;

III - serem elaborados em **suporte esterilizado**, e, *quando sólido*, livre de *micro-organismos* em fator de **diluição  $1 \times 10^{-2}$** ;

IV - estarem **livres de microorganismos** não especificados em fator de **diluição  $1 \times 10^{-5}$** ;

...

VII - serem **elaborados** somente com **micrganismos** relacionados no **Anexo II** (relação de microrganismos autorizados e relação de microrganismos recomendados).

# Legislação

## Coleta e custódia de amostras

### Decreto nº 4.954/2004

Art. 60. A amostra deverá ser representativa do lote em fiscalização e será obtida em **quatro unidades de amostras** homogêneas entre si, devidamente lacradas pelo Fiscal Federal Agropecuário com a etiqueta de vedação.

§ 1º **Três unidades de amostras serão destinadas ao órgão de fiscalização** e a quarta entregue ao responsável pelo produto.

### Instrução Normativa 53/2013

Art. 23. Estabelece: “A coleta de amostras de inoculantes deve ser feita retirando-se uma fração do lote ou partida composta por **cinco unidades de amostra**, destinando-se uma unidade de amostra ao estabelecimento produtor ou importador e **quatro unidades de amostra para realização das análises fiscal e periciais** em conformidade com o art. 60, do Decreto nº 4.954, de 2004, alterado pelo Decreto no 8.059, de 2013.

# Legislação

## Instrução Normativa SDA nº 30/ 2010

**Art. 1º** Estabelecer os métodos oficiais para **análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza...**

### DETERMINAÇÕES:

**Concentração (Contagem)** - mínima de  $1,0 \times 10^9$  UFC/g ou mL ( $\leq 20\%$ ) (**Art. 4º, 5º, 6º, 7º**)

- ✓ **Espalhamento em placa de Petri** - rizóbios, associativas, endofíticas e PGPM
- ✓ **Infecção em planta (NMP em planta)** - somente para rizóbios
- ✓ **Contagem em meio semi-sólido (NMP)** - associativas, endofíticas e PGPR

**Pureza (Contaminantes)** - ausentes no fator de diluição  $10^{-5}$  (**Art. 18º**)

- ✓ **Espalhamento em placa de Petri** (testes complementares: exame microscópico, teste bioquímico, sorológico e/ou molecular)

**Identificação** - confirmar a identidade do microrganismo declarado

- ✓ **Soroaglutinação direta** (**Art. 19º**)
- ✓ **Técnicas Moleculares** (**Art. 21º, 22º, 23º, 24º**)

# Legislação

## Análises Periciais

**Decreto nº 4.954, de 2004**

Art. 67. Para os inoculantes, observado o disposto no art. 65 deste Regulamento, serão **realizadas simultaneamente** a primeira e segunda análises periciais, a serem feitas conjuntamente pelos peritos da empresa e do laboratório oficial.

§ 1º Caso o resultado da segunda análise pericial **não seja divergente** da primeira análise pericial, será adotado como resultado definitivo a **média aritmética** dos valores encontrados nas análises periciais.

§ 2º Ocorrendo divergência entre os resultados da primeira e segunda perícias, prevalecerá o **resultado mais próximo das garantias**, incluindo a análise de fiscalização.

# Laboratórios escopo

| Produção de inoculantes | Matriz   |
|-------------------------|--|
| ± 80%                   | <b>Inoculante à base de <i>Bradyrhizobium</i> sp.</b>  |
| ± 10%                   | Inoculante à base de <i>Azospirillum</i> sp.   |
| < 10%                   | Outros inoculantes (a base de <i>Ensifer</i> ( <i>Sinorhizobium</i> ) sp., <i>Mesorhizobium</i> sp. <i>Rhizobium</i> sp.; <i>Nitrospirillum amazonense</i> (anterior <i>Azospirillum amazonense</i> ). |



| Determinação  | Técnica  | Método                          |
|---|--|---------------------------------|
| <b>Concentração</b><br>quantidade de microrganismos vivos por unidade de produto - Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/mL ou g | Espalhamento em superfície ( <i>Spread plate</i> ) e contagem em placas de Petri (meio sólido)   | Oficial IN 30, 2010 e alteração |
| <b>Pureza</b><br>ausência de microrganismos não declarados na diluição 10 <sup>-5</sup>   | Espalhamento em superfície ( <i>Spread Plate</i> ) e análise morfofisiológica de colônias, com a aplicação de testes complementares (exame microscópico, teste bioquímico, sorológico e/ou molecular) quando necessária. |                                 |
| <b>Identidade</b>   | <i>rep-PCR</i> (amplificação de sequências repetitivas no genoma)  |                                 |
|   | Soroaglutinação direta   |                                 |

# Laboratórios escopo

## Matriz

Outros inoculantes (a base de *Bacillus* sp.; *Pseudomonas* sp., *Trichoderma* sp., *Frateuria* sp. e *Penicillium bilaii*)



| Determinação  | Técnica        | Método   |
|---|----------------|--|
| <b>Concentração</b><br>quantidade de microrganismos vivos por unidade de produto - Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/mL ou g | Não disponível | Sem protocolo oficial - Propostas de métodos na solicitação de registro / não disponível |
| <b>Pureza</b><br>ausência de microrganismos não declarados na diluição 10 <sup>-5</sup>   |                |  |
| <b>Identidade</b>   |                |  |

# Métodos

## Instrução Normativa SDA nº 30/ 2010

Métodos oficiais – protocolo elaborado principalmente pela pesquisa. Contempla procedimentos não aplicáveis a **rotina de análises fiscais e periciais**, ex. número mais provável (NMP) em plantas.

- 2017 - Avaliação de desempenho (Inoculante à base de *Bradyrhizobium* sp.) - Laboratório de Microbiologia Agrícola (MAG/Slav/Lanagro-SP) – **necessidade de melhorias no protocolo oficial**
- 2018 - Início de Programa de Análise Interlaboratorial (Inoculante à base de *Bradyrhizobium* sp.), coordenado pela Seção Laboratorial Avançada em Jundiaí(Slav/Lanagro-SP)
- 2019- **Revisão dos métodos oficiais para análise de Inoculante à base de *Bradyrhizobium* sp. e definição de requisitos mínimos para validação** (MAPA e Órgãos de Pesquisa).

# Requisitos específicos

O laboratório deverá adquirir, diretamente de Coleção Oficial, estirpes autorizadas para a fabricação de inoculantes referentes a matriz de interesse.

**Coleção Oficial dos microrganismos para produção de inoculantes** - “... relações de micro-organismos descritas nos Anexos II e III desta Instrução Normativa” ... “Os bancos de germoplasma responsáveis pela guarda e manutenção das cepas ... serão homologados por ato do Secretário de Defesa Agropecuária.” (IN SDA nº 13/ 2011)

Produção de inoculantes

Obrigatoriedade de aquisição anual das estirpes de um banco de germoplasma homologado.

Coleções homologadas:

**Embrapa Soja (PR)**

**Fepagro (RS)**

[mag.lanagrosp@agricultura.gov.br](mailto:mag.lanagrosp@agricultura.gov.br)

MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO



*Obrigada pela atenção!*