

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

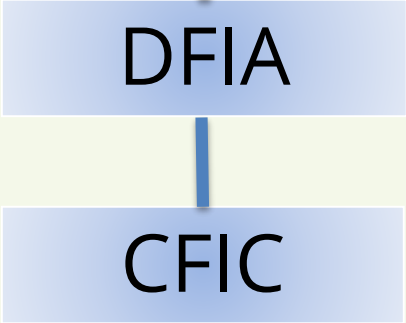
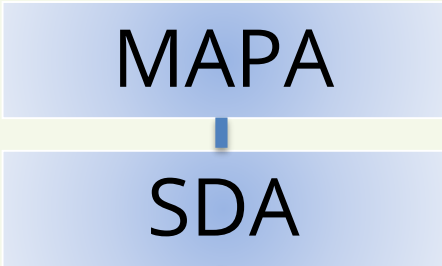


Aumento da confiança na tecnologia e ampliação do uso



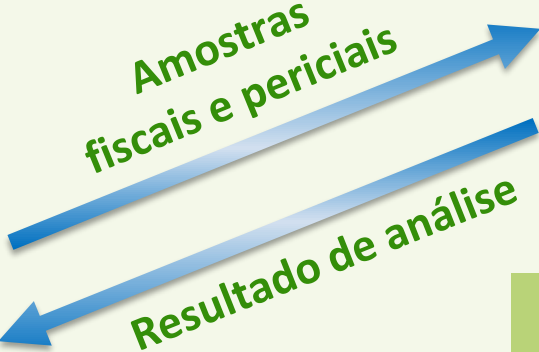
Estratégia de sustentabilidade

Diminuição drástica da aplicação de fertilizantes químicos na agricultura



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 1×10^{-2}** ;

IV - estarem **livres de microorganismos** não especificados em fator de **diluição 1×10^{-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%	Inoculante à base de <i>Bradyrhizobium</i> sp.
± 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
Concentração 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
Pureza ausência de microrganismos não declarados na diluição 10 ⁻⁵	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.	
Identidade	<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
Concentração 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
Pureza ausência de microrganismos não declarados na diluição 10 ⁻⁵		
Identidade		

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

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Obrigada pela atenção!