

## INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 13, DE 24 DE MARÇO DE 2011

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso das atribuições que lhe conferem os arts. 10 e 42 do Anexo I do Decreto nº 7.127, de 4 de março de 2010, tendo em vista o disposto no Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, que regulamentou a Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, e o que consta do Processo nº 21000.002705/2009-88, resolve:

Art. 1º 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, na forma dos Anexos I, II e III, desta Instrução Normativa.

Art. 2º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 3º Fica revogada a [Instrução Normativa SARC no 05, de 6 de agosto de 2004](#).

FRANCISCO SÉRGIO FERREIRA JARDIM

### ANEXO I

#### NORMAS SOBRE ESPECIFICAÇÕES, GARANTIAS, REGISTRO, EMBALAGEM E ROTULAGEM DOS INOCULANTES DESTINADOS À AGRICULTURA CAPÍTULO I DAS ESPECIFICAÇÕES, GARANTIAS MÍNIMAS E TOLERÂNCIAS DOS PRODUTOS

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;

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, de acordo com a recomendação específica emitida por órgão brasileiro de pesquisa científica oficial ou credenciado pelo MAPA;

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 micro-organismos não especificados em fator de diluição  $1 \times 10^{-5}$ ;

V - serem elaborados em suporte que forneça todas as condições de sobrevivência ao micro-organismo;

VI - apresentarem prazo de validade de, no mínimo, seis meses a partir da data de fabricação; e

VII - serem elaborados somente com micro-organismos relacionados no Anexo II desta Instrução Normativa.

Parágrafo único. Os inoculantes produzidos com micro-organismos referenciados no Anexo III ou que não constem desta Instrução Normativa deverão observar o disposto no artigo 5º desta Instrução Normativa.

Art. 2º Para os resultados analíticos obtidos será admitida tolerância em relação à garantia do produto, limitada a 20% (vinte por cento) para concentração de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama ou mililitro de produto.

## CAPÍTULO II

### DO REGISTRO DE PRODUTOS

Art. 3º Excetuados os casos previstos no regulamento aprovado pelo [Decreto nº 4.954, de 2004](#), e legislação complementar, os inoculantes produzidos, importados e comercializados no território nacional deverão ser registrados no órgão competente do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Art. 4º Além do disposto na Seção II, do Capítulo II, do regulamento aprovado pelo [Decreto nº 4.954, de 2004](#), na Seção II, do Capítulo II, da [Instrução Normativa Ministerial nº 10, de 6 de maio de 2004](#), e em outros atos normativos próprios do MAPA, o pedido de registro ou de autorização para importação pelo consumidor final de inoculantes que contenham bactérias fixadoras de nitrogênio para simbiose com leguminosas deverá conter:

I - garantias mínimas de acordo com os incisos I, III, IV, V, VI e VII do art. 1º do Anexo I desta Instrução Normativa;

II - relação das matérias-primas utilizadas na fabricação do inoculante, bem como suas respectivas funções;

III - espécie de bactéria utilizada na fabricação do produto e número da cepa na coleção oficial, conforme Anexo II desta Instrução Normativa;

IV - natureza física; e

V - especificação da(s) cultura(s) a que se destina.

Parágrafo único. A natureza física a que se refere o inciso IV deste artigo classifica-se em (i) sólido, quando o suporte utilizado é composto fundamentalmente de partículas sólidas; e, (ii) líquido, quando o suporte utilizado é fundamentalmente um fluido com ou sem partículas sólidas.

Art. 5º Os processos de registro de produto novo, em qualquer um de seus aspectos técnicos, e de produto elaborado com cepa(s) do Anexo III, deverão ser instruídos com relatório técnico-científico conclusivo emitido por órgão brasileiro de pesquisa oficial ou credenciado, que ateste a viabilidade e eficiência de seu uso agrícola.

§ 1º Os trabalhos de pesquisa com o produto deverão ser desenvolvidos de acordo com os requisitos mínimos e roteiros para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica para seleção de micro-

organismos e avaliação de viabilidade e eficiência agrônômica de produtos e tecnologias, constantes na página eletrônica do MAPA na Internet, [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br).

§ 2º No processo deverão constar os métodos para a identificação e contagem dos micro-organismos declarados e para avaliação da pureza do produto.

§ 3º A critério do órgão de fiscalização poderá ser solicitado parecer técnico, emitido por especialista da área, quanto à inocuidade do(s) organismo(s) à saúde humana e animal e à sanidade vegetal.

§ 4º Deverão também ser atendidas as seguintes exigências para fins de registro:

I - garantias mínimas de acordo com o inciso II do art. 1º do Anexo I desta Instrução Normativa;

II - relação das matérias-primas utilizadas na fabricação do inoculante, bem como suas respectivas funções;

III - classificação taxonômica do(s) micro-organismo (s) utilizado (s) na fabricação do produto e, quando aplicável, número da cepa na coleção oficial, conforme Anexo III desta Instrução Normativa;

IV - natureza física; e

V - especificação da(s) cultura(s) a que se destina;

§ 5º A natureza física a que se refere o inciso IV deste artigo classifica-se em (i) sólido, quando o suporte utilizado é composto fundamentalmente de partículas sólidas; e, (ii) líquido, quando o suporte utilizado é fundamentalmente um fluido com ou sem partículas sólidas.

### CAPÍTULO III

#### DA EMBALAGEM, ROTULAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE PRODUTOS

Art. 6º Os inoculantes, para serem vendidos ou expostos à venda em todo o território nacional, ficam obrigados a exibir rótulos redigidos em português, em embalagens apropriadas, que contenham, além das informações e dados obrigatórios relacionados à identificação do fabricante ou importador e do produto, estabelecidas na Seção I, do Capítulo VI, do regulamento aprovado pelo Decreto nº 4.954, de 2004, e no Capítulo III, da Instrução Normativa Ministerial nº 10, de 2004, entre outras exigências, as seguintes informações:

I - denominação do produto, "inoculante", seguida da natureza física e da especificação da cultura a que se destina, conforme o seguinte exemplo: "inoculante líquido para soja", sendo facultado incorporar à denominação do produto, o tipo do suporte utilizado, como, por exemplo, "inoculante sólido turfoso para soja";

II - espécie(s) do(s) microrganismo(s) contido(s) no produto e número(s) na coleção oficial, conforme Anexo II ou III;

III - instruções sobre conservação, modo de aplicação e especificações de dosagens;

IV - prazo de validade acompanhado da data de fabricação, ou data de validade; e

V - número do lote a que se refere a unidade do produto.

Parágrafo único. Para os produtos importados, além do disposto no caput e nos incisos I, II, III, IV e V deste artigo, deverá ser informado o nome do país onde o produto foi fabricado.

Art. 7º Fica facultada a inscrição, nos rótulos, de dados não estabelecidos como obrigatórios, desde que:

I - não dificultem a visibilidade e a compreensão dos dados obrigatórios; e

II - não contenham:

a) afirmações ou imagens que possam induzir o usuário a erro quanto à natureza, composição, segurança e eficácia do produto, e sua adequação ao uso;

b) comparações falsas ou equívocas com outros produtos;

c) indicações que contradigam as informações obrigatórias;

e d) afirmações de que o produto é recomendado por qualquer órgão do Governo.

Art. 8º Quando, mediante aprovação do órgão de fiscalização, for juntado folheto complementar que amplie os dados do rótulo ou que contenha dados que obrigatoriamente deste deverem constar, mas que nele não couberam pelas dimensões reduzidas da embalagem ou pelo volume de informações, observar-se-á o seguinte:

I - deve-se incluir no rótulo frase que recomende a leitura do folheto anexo, antes da utilização do produto; e

II - devem constar, tanto do rótulo como do folheto, em qualquer hipótese, o nome, o endereço, o número de registro no MAPA do fabricante ou do importador, o número de registro do produto e suas garantias.

Art. 9º Quando o produto, em condições normais de uso, representar algum risco à saúde humana, animal e ao ambiente, o rótulo deverá trazer informações sobre precauções de uso e armazenagem, com as advertências e cuidados necessários, visando à prevenção de acidentes.

Art. 10. O rótulo, embalagem e etiqueta não poderão conter recomendação de uso com fertilizantes ou agrotóxicos, ressalvados os casos recomendados por instituições de pesquisa oficiais ou credenciadas mediante apresentação de relatório técnico-científico conclusivo ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

## CAPÍTULO IV

### DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

Art. 11. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA será responsável pela coleção oficial dos microorganismos para produção de inoculantes.

Parágrafo único. Entende-se por coleção oficial as relações de micro-organismos descritas nos Anexos II e III desta Instrução Normativa.

Art. 12. Outros micro-organismos com atuação favorável ao crescimento vegetal poderão ser incluídos nos Anexos II ou III, desde que recomendados por instituições de pesquisa oficiais ou credenciadas.

§ 1º A inclusão de que trata o caput deste artigo será feita mediante apresentação de relatório técnico-científico conclusivo, resultante de trabalho de pesquisa conduzido de acordo com os requisitos mínimos e roteiros para avaliação da viabilidade e eficiência agronômica.

§ 2º Os novos micro-organismos deverão ser depositados pela instituição responsável pela recomendação no(s) banco(s) de germoplasma indicado(s) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e receberão designação específica.

Art. 13. As cepas constantes no Quadro 2 do Anexo II serão retiradas da relação de micro-organismos oficiais no prazo de dois anos a partir da data de publicação desta Instrução Normativa.

Parágrafo único. Instituições de pesquisa oficiais ou credenciadas, interessadas na manutenção das cepas, deverão apresentar publicação ou relatório técnico-científico conclusivo que ateste a sua viabilidade e eficiência agronômica.

Art. 14. Os bancos de germoplasma responsáveis pela guarda e manutenção das cepas constantes dos Anexos II e III desta Instrução Normativa serão homologados por ato do Secretário de Defesa Agropecuária.

Art. 15. Os estabelecimentos produtores e importadores deverão adquirir anualmente, de uma instituição responsável pela manutenção do banco de germoplasma, os micro-organismos correspondentes aos inoculantes que desejarem produzir.

Art. 16. Os estabelecimentos produtores e importadores de inoculantes terão prazo de 180 (cento e oitenta) dias, a partir da data de publicação desta Instrução Normativa, para se adaptarem às exigências relativas à embalagem e rotulagem previstas no Capítulo III.

Art. 17. O registro de produtos contendo micro-organismos resultantes de modificações por engenharia genética, bem como a inclusão destes organismos nos Anexos II e III desta Instrução Normativa somente poderão ocorrer após emissão de parecer favorável da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBIO.

## ANEXO II

### RELAÇÃO DOS MICRO-ORGANISMOS AUTORIZADOS PARA PRODUÇÃO DE INOCULANTES NO BRASIL.

Quadro 1

CULTURA LEGUMINOSA <sup>1</sup>	NOME COMUM	CEPA AUTORIZADA (SEMIA)	GÊNERO/ESPÉCIE	Nº ACESSO GENBANK <sup>2</sup>	DESIGNAÇÃO ORIGINAL	INSTITUIÇÃO QUE RECOMENDOU	NÍVEL DE RECOM. <sup>3</sup>
<b>LEGUMINOSAS DE GRÃOS</b>							
<i>Arachis hypogaea</i>	Amendoim	6144	<i>Bradyrhizobium</i> sp. ( <i>Arachis</i> sp.)	AY904750	Rhodesia 411	IAC	IV
<i>Cicer arietinum</i>	Grão de bico	396	<i>Mesorhizobium ciceri</i>	AY904731	TAL 1148	FEPAGRO/UFRGS	IV
<i>Glycine max</i>	Soja	5079	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AF234888	CPAC 15	Embrapa Cerrados	IV
		5080	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AF234889	CPAC 7	Embrapa Cerrados	IV
		587	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AF234890	SEMIA 587	FEPAGRO/UFRGS/Embrapa Cerrados	IV
		5019	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AF237422	29 W	Embrapa Agrobiologia/ Embrapa Cerrados/ FEPAGRO/UFRGS	IV
<i>Lens esculenta</i>	Lentilha	344	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	FJ025087	SEMIA 344	FEPAGRO/UFRGS	IV
		3025	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	FJ025091	CPAC L3	Embrapa Cerrados	IV
		3026	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	FJ025093	CPAC L12	Embrapa Cerrados	IV
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	4077	<i>Rhizobium tropici</i>	EU488752	CIAT 899	Embrapa Cerrados	IV
		4080	<i>Rhizobium tropici</i>	AF260274	PRF 81	Embrapa Soja/IAPAR	IV
		4088	<i>Rhizobium tropici</i>	EF054889	H 12	Embrapa Soja/Embrapa Cerrados	IV
<i>Pisum sativum</i>	Ervilha	3007	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	AY904742	B.11 <sup>a</sup>	Embrapa Cerrados	IV
		3033	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	n.d.	EEL 7802	EPAGRI	IV
<i>Vigna unguiculata</i>	Feijão de corda, Feijão miúdo, caupi	6461	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	EF158574	UFLA 3-84	UFLA	IV
		6462	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY649439	BR3267	Embrapa Agrobiologia	IV
		6463	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	EF158575	INPA3-11B	UFLA	IV
		6464	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY649430	BR 3262	Embrapa Roraima	IV
<b>LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS DE CLIMA TEMPERADO</b>							
<i>Lotus corniculatus</i>	Cornichão	806	<i>Mesorhizobium amorphae</i>	FJ025125	SEMIA 806	FEPAGRO/UFRGS	IV

		816	<i>Mesorhizobium sp.</i>	AY904737	SEMIA 816	FEPAGRO/UFRGS	IV
<i>Lotus pendunculatus</i>	Cornichão gigante	839	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	FJ390898	TAL 925	EPAGRI	III
<i>Medicago sativa</i>	Alfafa	116	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	FJ025128	USDA 1088	FEPAGRO/UFRGS	IV
		134	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	AY904727	SEMIA 134	FEPAGRO/UFRGS	IV
		135	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	AY904728	SEMIA 135	FEPAGRO/UFRGS	IV
<i>Trifolium pratense</i>	Trevo vermelho	222	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	AY904729	TA-1	FEPAGRO/UFRGS	IV
		265	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025088	U-26	FEPAGRO/UFRGS	IV
		2081	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	AY904741	EEL 1285	EPAGRI	III
		2082	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025094	EEL 8186	EPAGRI	III
<i>Trifolium repens</i>	Trevo branco	222	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	AY904729	TA-1	FEPAGRO/UFRGS	III
		235	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025090	UNZ-29	FEPAGRO/UFRGS	IV
		2082	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025094	EEL 8186	EPAGRI	IV
		2083	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025096	EEL 7782	EPAGRI	IV
<i>Trifolium subterraneum</i>	Trevo subterrâneo	222	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	AY904729	TA-1	FEPAGRO/UFRGS	IV
		265	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025088	U-26	FEPAGRO/UFRGS	IV
<i>Trifolium vesiculosum</i>	Trevo vesiculoso	2050	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025095	SEMIA 2050	FEPAGRO/UFRGS	III
		2051	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	AY904740	SEMIA 2051	FEPAGRO/UFRGS	III
<b>LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS DE CLIMA TROPICAL</b>							
<i>Arachis pintoi</i>	Amendoim forrageiro	6439	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	FJ025098	NC 230	EPAMIG/Embrapa Cerrados/UFGM	IV
		6440	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904789	MGAP 13	EPAMIG/Embrapa Cerrados	IV
<i>Cajanus cajan</i>	Guandu	6156	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904758	CPAC F2	EPAMIG/Embrapa Cerrados	IV
<i>Centrosema spp.</i>	Centrosema	690	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025107	C 100a	Embrapa Gado de Leite	IV
		6146	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904752	BR 1808	Embrapa Agrobiologia	III
		6424	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904787	CPAC J36	Embrapa Cerrados	IV
		6425	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904788	CIAT 2380	Embrapa Cerrados	IV
<i>Desmodium ovalifolium</i> (= <i>D. heterocarpon</i> )	Desmódio	6208	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904773	CIAT 2372	CEPLAC/CEPEC	III
		6209	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	n.d.	CIAT 4099	CEPLAC/CEPEC	III

<i>Indigofera hirsuta</i>	Anileira, Indigófera	6156	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904758	CPAC F2	Embrapa Cerrados	III
		6158	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904760	CPAC C2	Embrapa Cerrados	III
<i>Lotononis bainesii</i>	Lotononis	658	<i>Methylobacterium sp</i>	AY904733	CB 376	FEPAGRO/UFRGS	III
<i>Macroptilium atropurpureum</i>	Siratiro	656	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904732	SEMIA 656	FEPAGRO	III
<i>Neonotonia wightii</i> (= <i>Glycine wightii</i> )	Soja perene	656	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904732	SEMIA 656	FEPAGRO	III
<i>Stylosanthes spp.</i>	Estilosantes	6154	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	FJ025100	BR 446	Embrapa Agrobiologia	III
		6155	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904757	BR 502	Embrapa Agrobiologia	III
<b>LEGUMINOSAS PARA ADUBAÇÃO VERDE</b>							
<i>Calopogonium sp.</i>	Calopogônio	6152	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904756	BR 1602	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Canavalia ensiformis</i>	Feijão de porco	6156	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904758	CPAC F2	Embrapa Cerrados	III
		6158	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904760	CPAC C2	Embrapa Cerrados	III
<i>Crotalaria juncea</i>	Crotalária	6156	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904758	CPAC F2	Embrapa Cerrados	IV
<i>Crotalaria spectabilis</i>	Crotalária	6156	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904758	CPAC F2	Embrapa Cerrados	III
		6158	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904760	CPAC C2	Embrapa Cerrados	III
<i>Lupinus sp.</i>	Tremoço	928	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	FJ390904	W 72	FEPAGRO	III
		938	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904739	SEMIA 938	FEPAGRO	III
<i>Mucuna pruriens</i> (= <i>Stizolobium aterrimum</i> )	Mucuna preta	6158	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904760	CPAC C2	Embrapa Cerrados	IV
<i>Pueraria phaseoloides</i>	Kudzu tropical	6175	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904771	CPAC Q1	Embrapa Cerrados	IV
<b>LEGUMINOSAS ARBÓREAS</b>							
<i>Acacia angustissima</i>	Acácia	6430	<i>Mesorhizobium amorphae</i>	FJ025124	BR 3630	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Acacia auriculiformis</i>		6387	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904778	BR 3609	Embrapa Agrobiologia	IV
		6391	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904780	BR 3624	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Acacia farnesiana</i>		6430	<i>Mesorhizobium amorphae</i>	FJ025124	BR 3630	Embrapa Agrobiologia	III
		6436	<i>Rhizobium sp.</i>	FJ025119	BR 9002	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Acacia mangium</i>	Acácia mangium	6387	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904778	BR 3609	Embrapa Agrobiologia	IV
		6420	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904786	BR 3617	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Acacia salicina</i>		6400	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025114	BR 5005	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Acosmium nitens</i>		6443	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	FJ390932	BR 4901	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Albizia lebbek</i>	Coração de negro, Pau preto	6160	<i>Bradyrhizobium elkanii.</i>	AY904762	BR 5610	Embrapa Agrobiologia	III
		6432	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025110	BR 5611	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Balizia pedicellaris</i>		6396	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	FJ025099	BR 6816	Embrapa Agrobiologia	III
		6408	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025103	BR 6815	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Dalbergia nigra</i>	Jacarandá	6101	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904749	BR 8404	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Timbaúva	6159	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904761	BR 4406	Embrapa Agrobiologia	III

<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Orelha-de-elefante	6159	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904761	BR 4406	Embrapa Agrobiologia	IV
		6403	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025112	BR 6205	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Enterolobium timbouva</i>	Timbaúva	6159	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904761	BR 4406	Embrapa Agrobiologia	IV
		6397	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025139	BR 4407	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Erythrina verna</i>	Suinã	6100	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904748	BR 5609	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Falcataria mollucana</i> ( <i>sin. Paraserianthes facataria</i> , <i>Albi-zia falcataria</i> )	Albícia	6100	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904748	BR 5609	Embrapa Agrobiologia	IV
		6169	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904770	BR 5612	Embrapa Agrobiologia	III
		6432	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025110	BR 5611	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Gliricidia sepium</i>	Glicidia	6168	<i>Rhizobium sp.</i>	AY904769	BR 8801	Embrapa Agrobiologia	IV
		6435	<i>Rhizobium sp.</i>	FJ025130	BR 8802	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Leucaena diversifolia</i>	Leucena	6162	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	FJ025127	UFC 933.52	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Leucaena leucocephala</i> vK72, v.K8, v. Peru	Leucena	6153	<i>Bradyrhizobium japonicum sp.</i>	FJ025097	BR 827	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Leucaena leucocephala v.</i> <i>Cunnigha</i>	Leucena	6069	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904746	DF-10	Embrapa Cerrados	IV
		6070	<i>Rhizobium sp.</i>	AY904747	DF-15	Embrapa Cerrados	IV
<i>Pithecellobium tortum</i>		6406	<i>Rhizobium etli</i>	FJ025116	BR 6812	Embrapa Agrobiologia	III
<i>Prosopis juliflora</i>	Algaroba	6161	<i>Sinorhizobium sp</i>	AY904763	BR 4002	Embrapa Agrobiologia	IV
		6162	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	FJ025127	UFC 933.52	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Pseudosamanea</i> <i>guachapele</i> (=Albizia <i>guachapele</i> , =Acacia <i>guachapele</i> )		6403	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025112	BR 6205	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Samanea saman</i> (=Mimosa <i>saman</i> , <i>Pithecellobium saman</i> , <i>Enterolobium saman</i> , <i>Inga</i> <i>saman e Calliandra saman</i> )	Árvore da chuva	6403	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025112	BR 6205	Embrapa Agrobiologia	IV
		6405	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025109	BR 6212	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Sesbania virgata</i>	Sesbania	6401	<i>Azorhizobium doebereineriae</i>	AY904783	BR 5401	Embrapa Agrobiologia	VI

<sup>1</sup> Nomenclatura das leguminosas segundo o ILDIS (International Legume Database & Information Service). Disponível em <http://www.ildis.org>. Acesso em 10 dez 2008.

<sup>2</sup> Número de acesso da sequência completa do gene ribossomal 16S no GenBank. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. N.d. se refere a acesso não disponível.

<sup>3</sup> I, teste em tubos; II, teste sob condições estéreis; III, teste em solo; IV, teste a campo.

Quadro 2

CULTURA LEGUMINOSA <sup>1</sup>	NOME COMUM	CEPA AUTORIZADA (SEMIA)	GÊNERO/ESPÉCIE	Nº ACESSO GENBANK <sup>2</sup>	DESIGNAÇÃO ORIGINAL	INSTITUIÇÃO QUE RECOMENDOU	NÍVEL DE RECOM.
<b>LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS DE CLIMA TEMPERADO</b>							
<i>Adesmia latifolia</i>	Adesmia	6437	<i>Rhizobium sp.</i>	FJ025118	EEL 15084	Embrapa Trigo/EPAGRI	II
		6438	<i>Rhizobium sp.</i>	FJ025120	ET 226	Embrapa Trigo/UFRGS/UPF	II
<i>Lathyrus odoratus</i>	Ervilha de cheiro, sincho	388	<i>Rhizobium leguminosarum bv viceae</i>	FJ025089	TAL 364	FEPAGRO/UFRGS	II
		3018	<i>Rhizobium leguminosarum bv viceae</i>	FJ025092	SEMIA 3018	FEPAGRO/UFRGS	II
<i>Lotus glaber (=L. tenuis)</i>	Cornichão	830	<i>Mesorhizobium sp.</i>	AY904738	SEMIA 830	FEPAGRO/UFRGS	II
<i>Medicago polymorpha</i>	Trevo carretilha	103	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	AY904726	SEMIA 103	FEPAGRO/UFRGS	II
<i>Ornithopus sativus</i>	Serradela	905	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	FJ959100	SEMIA 905	FEPAGRO/UFRGS	II
		929	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	FJ390938	SEMIA 929	FEPAGRO/UFRGS	II
<i>Trifolium semipilosum</i>	Trevo do Quênia	2002	<i>Rhizobium leguminosarum bv. trifolii</i>	FJ025086	CB 782	FEPAGRO/UFRGS	I
<i>Vicia sativa</i>	Ervilhaca	384	<i>Rhizobium etli</i>	AY904730	SEMIA 384	FEPAGRO/UFRGS	II
<b>LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS DE CLIMA TROPICAL</b>							
<i>Cajanus Cajan</i>	Guandu	6157	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904759	BR 2801	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Desmodium incanum</i>	Desmódio	6028	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904744	TAL 569	FEPAGRO	II
<i>Desmodium intortum</i>	Desmódio	656	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904732	SEMIA 656	FEPAGRO	II
<i>Galactia striata</i>	Galácia	6149	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904754	CB 627	IAC	II
		6150	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904755	SMS 300	IAC	II
<i>Lablab purpureus</i>	Lablab	662	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904734	CB 188	FEPAGRO/UFRGS	II
		695	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904735	E 85	FEPAGRO/UFRGS	II
<i>Macrotyloma axillare</i>	Macrotiloma	6149	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904754	CB 627	IAC	II
<i>Neonotonia wightii (=Glycine wightii)</i>	Soja perene	6148	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904753	SMS 303	IAC	II
<b>LEGUMINOSAS PARA ADUBAÇÃO VERDE</b>							
<i>Crotalaria juncea</i>	Crotalária	6145	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904751	BR 2001	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	Feijão Guarda	6145	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904751	BR 2001	IAC	II
		6319	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	AY904774	NC 92	IAC	II
<b>LEGUMINOSAS ARBÓREAS</b>							
<i>Acacia decurrens</i>	Acácia da Austrália	6164	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904765	BR 3608	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Acacia mearnsii</i>	Acácia negra	6163	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904764	BR 3607	Embrapa Agrobiologia	II
		6164	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904765	BR 3608	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Acacia podalyriaefolia</i>	Acácia mimosa	6388	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ959101	BR 3611	Embrapa Agrobiologia	II

		6389	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025113	BR 3612	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Acacia salicina</i>		6392	<i>Mesorhizobium amorphae</i>	FJ025126	BR 3804	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Acacia saligna</i>		6096	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025115	BR 8601	Embrapa Agrobiologia	II
		6428	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025106	BR 3628	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Bowdichia virgilioides</i>		6096	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025115	BR 8601	Embrapa Agrobiologia	II
		6414	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025111	BR 8602	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Calliandra houstoniana</i> (= <i>C. calothyrsus</i> )	Caliandra	6395	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	FJ025101	BR 4301	Embrapa Agrobiologia	II
		6423	<i>Rhizobium sp.</i>	FJ025132	BR 4302	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Calliandra surinamensis</i>	Caliandra	6395	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	FJ025101	BR 4301	Embrapa Agrobiologia	II
		6423	<i>Rhizobium sp.</i>	FJ025132	BR 4302	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Chamaecrista ensiformis</i>		6392	<i>Mesorhizobium amorphae</i>	FJ025126	BR 3804	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Dimorphandra jorgei</i>		6099	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	FJ3903941	BR 5004	Embrapa Agrobiologia	II
		6400	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025114	BR 5005	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Erythrina poeppigiana</i>		6388	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ959101	BR 3611	Embrapa Agrobiologia	II
		6426	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ959102	BR 96	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Erythrina speciosa</i>		6395	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	FJ025101	BR 4301	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Inga marginata</i>	Ingá	6433	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025105	BR 6609	Embrapa Agrobiologia	II
		6434	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	FJ390934	BR 6610	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Lonchocarpus costatus</i>		6399	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025102	BR 6010	Embrapa Agrobiologia	II
		6404	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025104	BR 6009	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Mimosa bimucronata</i>		6386	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	n.d.	BR 3460	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Parapiptadenia rigida</i>	Angico	6416	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025108	BR 9004	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Poecilanthe parviflora</i>		6403	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	FJ025112	BR 6205	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Sclerolobium paniculatum</i> ( <i>Tachigali vulgaris</i> )	Taxi do campo	6160	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904762	BR 5610	Embrapa Agrobiologia	II
		6420	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904786	BR 3617	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Sesbania virgata</i>		6402	<i>Azorhizobium sp.</i>	AY904784	BR 5404	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Tipuana tipu</i>	Tipuana	6192	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904772	SEMIA 6192	FEPAGRO/UFRGS	II

<sup>1</sup> Nomenclatura das leguminosas segundo o ILDIS (International Legume Database & Information Service). Disponível em <http://www.ildis.org>. Acesso em 10 dez 2008.

<sup>2</sup> Número de acesso da sequência completa do gene ribossomal 16S no GenBank. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. N.d. se refere a acesso não disponível.

<sup>3</sup> I, teste em tubos; II, teste sob condições estéreis; III, teste em solo; IV, teste a campo.

## ANEXO III

### RELAÇÃO DOS MICRO-ORGANISMOS RECOMENDADOS PARA PRODUÇÃO DE INOCULANTES NO BRASIL

CULTURA	NOME COMUM	GÊNERO/ESPÉCIE	DESIGNAÇÃO ORIGINAL	INSTITUIÇÃO QUE RECOMENDOU
<i>Eucalyptus</i> sp	Eucalipto	<i>Bacillus subtilis</i>	UFV 3918	Universidade Federal de Viçosa
<i>Eucalyptus</i> sp	Eucalipto	<i>Frauteria aurantia</i>	UFV R1	Universidade Federal de Viçosa
<i>Eucalyptus</i> sp	Eucalipto	<i>Bacillus subtilis</i>	UFV S1	Universidade Federal de Viçosa
<i>Eucalyptus</i> sp	Eucalipto	<i>Bacillus subtilis</i>	UFV S2	Universidade Federal de Viçosa
<i>Triticum</i> spp	Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V1	Embrapa Soja Universidade Federal do Paraná
<i>Zea mays</i>	Milho	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V4	Embrapa Soja Universidade Federal do Paraná
<i>Zea mays</i> e <i>Triticum</i> spp	Milho e Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V5	Embrapa Soja Universidade Federal do Paraná
<i>Zea mays</i> e <i>Triticum</i> spp	Milho e Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V6	Embrapa Soja Universidade Federal do Paraná
<i>Zea mays</i>	Milho	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V7	Embrapa Soja Universidade Federal do Paraná
<i>Triticum</i> spp	Trigo	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V8	Embrapa Soja Universidade Federal do Paraná
<i>Oriza sativa</i>	Arroz	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V5	Universidade Estadual de Maringá Universidade Estadual Paulista
<i>Oriza sativa</i>	Arroz	<i>Azospirillum brasilense</i>	Ab-V6	Universidade Estadual de Maringá Universidade Estadual Paulista

D.O.U., 25/03/2011 - Seção 1

## ANEXO à IN SDA 13, de 25/03/2011

### REQUISITOS MÍNIMOS PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE CEPAS, PRODUTOS E TECNOLOGIAS RELACIONADOS À MICRO-ORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO.

#### 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As avaliações relacionadas a micro-organismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) deverão considerar as definições e os procedimentos básicos de pesquisa descritos nos documentos 1 e 2, disponíveis na página eletrônica do MAPA na internet, na área de registro para inoculantes. Os procedimentos de pesquisa poderão ser adaptados de acordo com a peculiaridade do grupo funcional em estudo, de forma a possibilitar a avaliação de sua viabilidade e eficiência agronômica.

#### 2. CONDIÇÕES BÁSICAS PARA RECOMENDAÇÃO DE NOVAS CEPAS.

Apresentação de Relatório Técnico-Científico conclusivo, conforme item 4,5. O(s) pesquisador(es) coordenador(es) pela avaliação da viabilidade e eficiência agronômica deve(m) necessariamente pertencer a instituição de pesquisa oficial ou credenciada e possuir expertise em microbiologia.

#### 3. CONDIÇÕES BÁSICAS PARA RECOMENDAÇÃO DE PRODUTOS INOCULANTES E NOVAS TECNOLOGIAS

Apresentação de Relatório Técnico-Científico conclusivo, conforme item 4.5.

Os testes devem contemplar a avaliação de qualidade do produto em laboratório de acordo com os métodos oficiais quando existentes. Nos testes de novas tecnologias que envolvam a exposição das células a condições estressantes deve ainda ser conduzido ensaio laboratorial de sobrevivência de células sobre sementes, de acordo com método oficial.

Os ensaios de avaliação de eficiência devem ser conduzidos em casa de vegetação e viveiro ou campo, a depender do modo de ação e da finalidade de uso do inoculantes. Quando as avaliações dos produtos forem realizadas apenas em casa de vegetação ou viveiro, os ensaios deverão ser conduzidos por pelo menos quatro vezes, com o emprego de diferentes cultivares, quando aplicável.

As avaliações de campo deverão ser conduzidas em, pelo menos, dois locais em condições edafoclimáticas distintas, tecnicamente adequadas à cultura, por no mínimo duas safras agrícolas ou, pelo menos em quatro locais em condições edafoclimáticas distintas tecnicamente adequadas à cultura em questão em uma única safra. Deve ser dada prioridade à condução dos experimentos em locais representativos da cultura.

Os ensaios que forem implantados mas não puderem ser colhidos por questões que fujam ao controle dos envolvidos com a pesquisa não serão considerados na totalização de ensaios realizados.

A critério do MAPA poderão ser exigidos ensaios de campo para comprovação de eficiência de novas tecnologias de inoculação.

Eventuais desvios do protocolo mínimo aqui apresentado deverão ser justificados tecnicamente no Relatório Técnico-Científico conclusivo (item 4.5)

#### 4. AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE CEPAS, INOCULANTES E TECNOLOGIAS DE INOCULAÇÃO

4.1 Os tratamentos deverão sempre ser comparados com a testemunha absoluta (ausência do inoculante e da tecnologia), a testemunha positiva (utilização da tecnologia ou nutriente que se pretenda substituir) e, quando existente, com inoculante já registrado para o mesmo fim.

4.2 Em todos os casos o conjunto mínimo de parâmetros a serem avaliados será:

4.2.1. Culturas de grãos:

Produção de biomassa de plantas (parte aérea e/ou raízes), rendimento de grãos, concentração do(s) nutriente(s) em estudo. No caso de leguminosas, incluir os demais parâmetros especificados no anexo IV.

4.2.2. Plantas forrageiras e destinadas à adubação verde:

Produção de biomassa de plantas (parte aérea e/ou raízes), conforme especificação da cultura, altura de plantas, concentração do(s) nutriente(s) em estudo. No caso de leguminosas, incluir os demais parâmetros especificados no Protocolo de Leguminosas.

4.2.3. Espécies florestais:

Produção de biomassa de plantas (parte aérea e/ou raízes), conforme especificação da cultura, altura de plantas, diâmetro de caule, sobrevivência das mudas, concentração do(s) nutriente(s) em estudo e outros parâmetros adequados para avaliação da eficiência do processo em estudo. No caso de leguminosas, incluir os demais parâmetros especificados no Protocolo de Leguminosas.

4.3. Análise estatística

Os resultados devem ser submetidos à análise de variância e, quando o teste “F” for significativo a 5%, as médias dos tratamentos deverão ser comparadas por um teste de média adequado, também ao nível de 5% de significância. Se o teste de “F” não for significativa a 5% mas apresentar significância a 10%, as médias dos tratamentos deverão ser comparadas pelo teste de média, também ao nível de 10% de significância.

4.4. Interpretação dos Resultados

Para recomendação de inoculantes ou outras tecnologias, estes devem apresentar resposta igual ou superior à inoculação padrão ou às tecnologias já recomendadas, respectivamente, e superior ao controle sem inoculação nos quatro ensaios. Para recomendação de nova cepa, esta deve apresentar resposta igual ou superior às cepas já recomendadas para a mesma cultura, e superior ao controle sem inoculação nos quatro ensaios. No caso da condução de um maior número de experimentos, o número de casos positivos deve representar pelo menos 70% do total.

4.5. Relatório Técnico-Científico

O relatório técnico-científico deve ser redigido em língua portuguesa, em papel timbrado da instituição e seguir as orientações deste protocolo contendo: revisão bibliográfica enfatizando o objetivo do trabalho, descrição completa da metodologia, resultados obtidos e conclusão clara sobre a eficiência e recomendação do produto ou tecnologia testada, assim como a identificação e a(s) assinatura(s) do(s) pesquisador(es) responsável(is). Análise dos custos variáveis entre os controles e o produto ou a tecnologia testada poderá ser incluída, a critério da requerente.

**PROTOCOLOS OFICIAIS PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE CEPAS PRODUTOS E TECNOLOGIAS RELACIONADA ÀS BACTÉRIAS ASSOCIATIVAS.**

**1. DEFINIÇÕES**

Para os fins deste protocolo considera-se:

Inoculante – produto que contenha micro-organismos com atuação favorável ao crescimento de plantas.

Tecnologias – conjunto de procedimentos adotados no uso e aplicação de inoculantes.

Cepas – grupo de micro-organismos com características genéticas idênticas, distinto de outros grupos dentro da mesma espécie.

**2. CONDIÇÕES BÁSICAS PARA RECOMENDAÇÃO DE PRODUTOS INOCULANTES E TECNOLOGIAS.**

2.1. Apresentação de Relatório Técnico-Científico conclusivo, conforme item 4.3.6. O(s) pesquisador(es) coordenador(es) pela avaliação da viabilidade e eficiência agronômica deve(m) necessariamente pertencer a instituição de pesquisa oficial ou credenciada e possuir expertise em microbiologia.

2.2. Os testes devem contemplar a avaliação de qualidade do produto em laboratório de acordo com os métodos oficiais quando existentes. Nos testes de novas tecnologias que envolvam a exposição das células a condições estressantes deve ainda ser conduzido ensaio laboratorial de sobrevivência de células sobre sementes, de acordo com método oficial.

Os ensaios de avaliação de eficiência devem ser conduzidos em casa de vegetação e viveiro ou campo, a depender do modo de ação e da finalidade de uso do inoculantes. Quando as avaliações dos produtos forem realizadas apenas em casa de vegetação ou viveiro, os ensaios deverão ser conduzidos por pelo menos quatro vezes, com o emprego de diferentes cultivares, quando aplicável.

As avaliações de campo deverão ser conduzidas em, pelo menos, dois locais em condições edafoclimáticas distintas, tecnicamente adequadas à cultura, por no mínimo duas safras agrícolas ou, pelo menos em quatro locais em condições edafoclimáticas distintas tecnicamente adequadas à cultura em questão em uma única safra. Deve ser dada prioridade à condução dos experimentos em locais representativos da cultura.

Os ensaios que forem implantados mas não puderem ser colhidos por questões que fujam ao controle dos envolvidos com a pesquisa não serão considerados na totalização de ensaios realizados.

A critério do MAPA poderão ser exigidos ensaios de campo para comprovação de eficiência de novas tecnologias de inoculação.

Eventuais desvios do protocolo mínimo aqui apresentado deverão ser justificados tecnicamente no Relatório Técnico-Científico conclusivo (item 4.3.6)

### **3. CONDIÇÕES BÁSICAS PARA RECOMENDAÇÃO DE NOVAS CEPAS.**

Apresentação de Relatório Técnico-Científico conclusivo, conforme item 4.3.6, que atenda a todos os requisitos especificados para avaliação de cepas.

### **4. AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE CEPAS, INOCULANTES E TECNOLOGIAS DE INOCULAÇÃO.**

#### 4.1. Avaliação em laboratório

**Cepas:** As cepas apresentadas para oficialização deverão ser caracterizadas genética e morfofisiologicamente.

**Produtos:** Os produtos formulados utilizados nos testes, deverão ser caracterizados em laboratório quanto à identidade, pureza e concentração, conforme métodos oficiais.

**Tecnologias:** Na avaliação de novas tecnologias que envolvam a sobrevivência da bactéria nas sementes deverão ser conduzidos testes laboratoriais de sobrevivência, de acordo com método oficial. A sobrevivência das bactérias no final do prazo limite especificado pelo proponente para o produto em teste deverá ser comparada com o tratamento testemunha que reproduza a recomendação técnica, ou seja, determinação da sobrevivência do micro-organismo no mesmo dia da inoculação, sendo as bactérias protegidas dos fatores estressantes.

#### 4.2. Testes de seleção de cepas (tubos de ensaio)

Colocar as sementes pré-germinadas em tubos, contendo solução autoclavada de Hoagland agarizada a 0,6%<sup>1</sup> ou similar. Inocular a suspensão das cepas em fase de crescimento e concentração de células compatíveis com o objetivo do estudo em cada tubo. Devem ser empregados no mínimo quatro repetições para cada tratamento.

4.2.1. Os testes de seleção de cepas em tubos de ensaios deverão conter, no mínimo, os seguintes tratamentos:

Tratamento 1. Ausência de inoculação e de fertilizante nitrogenado;

Tratamento 2. Controle sem inoculação, com suprimento de nitrogênio na concentração recomendada para a cultura;

Tratamentos 3. Inoculação de cepas já recomendadas para a cultura, testadas separadamente, quando existentes;

Tratamentos 4. Cepas a serem testadas.

4.2.2. Parâmetros mínimos a serem avaliados: número (NMP) das bactérias diazotróficas, massa fresca e seca da parte aérea, superfície ou volume radicular e N total até no máximo 40 dias após a inoculação.

Registrar as condições de condução dos experimentos, como por exemplo temperatura, luminosidade, umidade, etc.

Cuidados de assepsia devem ser observados durante o preparo dos tubos, inoculação e condução dos testes.

#### 4.3. Avaliação de cepas, inoculantes e tecnologias em casa de vegetação e testes de eficiência agronômica a campo

Antes de realizar o ensaio em casa de vegetação ou a campo devem ser levadas em conta as seguintes considerações: a) o veículo usado na formulação do inoculante, b) adição de aditivos ou adjuvantes

para eficiência de adesão do inoculante as sementes, c) cuidados essenciais após o preparo das sementes inoculadas durante as fases pré e pós-semeadura.

Cuidados devem ser tomados com as sementes inoculadas como, por exemplo, evitar exposição ao sol e contato com agrotóxicos e garantir condições adequadas de armazenamento.

A metodologia aqui descrita é própria para uma grande maioria de plantas não leguminosas (cereais) e deverá sofrer as adaptações necessárias para outras culturas.

#### 4.3.1. Princípios básicos para o preparo do solo ou área experimental

Análise química do solo utilizado nos experimentos em casa de vegetação ou da área escolhida deverá ser realizada para determinação da necessidade de correção e de adubação, de acordo com os requerimentos da cultura. Sempre que possível, fazer análise foliar da cultura anterior para avaliar a demanda de adubação com micronutrientes.

Sementes do(s) cereal(ais) ou da cultura alvo, cultivar(es) recomendada(s) para a região, cultivar(es) recomendada(s) para a região da cultura alvo, depois de inoculadas ou não, serão semeadas de forma manual em casa de vegetação ou a campo. Em grandes áreas também poderão ser usados equipamentos adequados à semeadura das sementes inoculadas, desde que respeitado as condições de assepsia entre seu uso com os diferentes tratamentos.

As parcelas experimentais deverão ter no mínimo 4,0 x 6,0 m e serão distanciadas em 1,0 m, com espaçamento de acordo com a recomendação técnica para cultura em questão. A colheita da produção de grãos será feita nas quatro linhas centrais de cada parcela, dispensando-se 1m em cada cabeceira. O delineamento experimental utilizado deverá ser o de blocos ao acaso, com, no mínimo, quatro repetições.

#### 4.3.2. Tratamentos

Os experimentos em vasos e de campo deverão conter, no mínimo, os seguintes tratamentos:

Tratamento 1. Ausência de fertilizante nitrogenado e de inoculação;

Tratamento 2. Controle com suprimento de nitrogênio mineral na dose recomendada para a cultura

Tratamento 3. Metade da dose de nitrogênio mineral recomendada para a cultura

Tratamento 4. Inoculação padrão contendo ao menos uma das cepas recomendadas para a cultura, quando existente.

Observação: Nos tratamentos 2 e 3 empregar como fonte de N a uréia ou outra fonte recomendada para a cultura e parcelar a dose total em duas aplicações, sendo 50% no plantio e 50% na floração.

Outros tratamentos envolvendo outras porcentagens de redução na dose de N aplicada e associando doses de nitrogênio com a inoculação poderão ser incluídos, a depender do modo de uso que se pretenda indicar para o produto.

Para a maioria dos grãos, a inoculação padrão consiste em umedecer as sementes com goma arábica ou polvilho a 3% ou solução açucarada 10%, usando no máximo 300 mL por 50 kg de sementes, e aplicação de aproximadamente  $1,0 \times 10^5$  células por semente, de um inoculante turfoso com população mínima de  $1 \times 10^8$  células por g ou mL de inoculante. Nos casos em que esta recomendação não for seguida, especificar o procedimento de inoculação e concentração de células no material propagativo.

Sempre usar a mesma população de células para a inoculação padrão e para os inoculantes ou cepas em teste, assim como a dose recomendada pelo fabricante (dois tratamentos por produto, caso a recomendação do fabricante resulte em diferente número de células por semente).

#### 4.3.3. Análises e parâmetros a serem avaliados

##### 4.3.3.1. Caracterização química e física do solo

Deverão ser analisadas as características químicas e físicas dos solos, como pH, macro e micronutrientes. Para os micronutrientes, analisar apenas aqueles para os quais existirem métodos de extração adequados e análises de calibração.

##### 4.3.3.2. População de bactérias diazotróficas

O solo da área experimental deverá ter a população de bactérias diazotróficas determinada.

##### 4.3.3.3. Parâmetros relacionados à cultura

Devem ser avaliados: produção de biomassa vegetal seca (parte aérea e/ou raízes) (g/planta) e N-total na massa seca (mg N/planta) e nos grãos (kg N/ha), bem como outros parâmetros inerentes à cultura em questão. No caso de grãos, apresentar, também os resultados de eficiência das cepas na produção, representada pelo teor de N nos grãos, rendimento da cultura a 13% de umidade em kg/ha. Os dados de rendimento devem ser apresentados também para outras culturas.

#### 4.3.4. Análise estatística

Os resultados devem ser submetidos à análise de variância e, quando o teste “F” for significativo a 5%, as médias dos tratamentos deverão ser comparadas por um teste de média adequado, também ao nível de 5% de significância. Se o teste de “F” não for significativa a 5% mas apresentar significância a 10%, as médias dos tratamentos deverão ser comparadas pelo teste de média, também ao nível de 10% de significância.

#### 4.3.5. Interpretação dos Resultados

Para recomendação de inoculantes ou outras tecnologias, estes devem apresentar resposta igual ou superior à inoculação padrão ou às tecnologias já recomendadas, respectivamente, e superior ao controle sem inoculação nos quatro ensaios. Para recomendação de nova cepa, esta deve apresentar resposta igual ou superior a pelo menos uma cepa já recomendada para a mesma cultura, e superior ao controle sem inoculação nos quatro ensaios. No caso da condução de um maior número de experimentos, o número de casos positivos deve representar pelo menos 70% do total.

#### 4.3.6. Relatório Técnico-Científico

O relatório técnico-científico deve ser redigido em língua portuguesa, em papel timbrado da instituição e seguir as orientações deste protocolo contendo: revisão bibliográfica enfatizando o objetivo do trabalho, descrição completa da metodologia, resultados obtidos e conclusão clara sobre a eficiência e recomendação do produto ou tecnologia testada, assim como a(s) assinatura (s) do(s) pesquisador(es) responsável(is). Análise dos custos variáveis entre os controles e o produto ou a tecnologia testada poderá ser incluída, a critério da requerente.

<sup>1</sup> BALDANI, V. L. D. ; BALDANI, José Ivo ; DÖBEREINER, Johanna . Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp.. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v. 30, p. 485-491, 2000.

Protocolo elaborado com base no “Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, cepas e outras tecnologias relacionada ao processo de fixação biológica do nitrogênio em plantas não leguminosas” descrito nos Anais da 13ª Reunião da Rede de Laboratórios para

Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE). Londrina: EMBRAPA SOJA, 2007. 212 p. – (Documento/Embrapa Soja, n.290).

# **PROTOCOLO OFICIAL PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE CEPAS, INOCULANTES E TECNOLOGIAS RELACIONADOS AO PROCESSO DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS.**

## **1. DEFINIÇÕES**

Para os fins deste protocolo considera-se:

Inoculante – produto que contenha micro-organismos com atuação favorável ao crescimento de plantas.

Tecnologias – conjunto de procedimentos adotados no uso e aplicação de inoculantes.

Cepas – grupo de micro-organismos com características genéticas idênticas, distinto de outros grupos dentro da mesma espécie.

## **2. CONDIÇÕES BÁSICAS PARA RECOMENDAÇÃO DE PRODUTOS INOCULANTES E TECNOLOGIAS.**

2.1. Apresentação de Relatório Técnico-Científico conclusivo conforme item 4.3.5. O(s) pesquisador(es) coordenador(es) deve(m) necessariamente pertencer a instituição de pesquisa oficial ou credenciada e possuir expertise em microbiologia agrícola.

2.2. Os testes devem contemplar a avaliação de qualidade do produto em laboratório de acordo com os métodos oficiais.

Os ensaios de avaliação de eficiência devem ser conduzidos em casa de vegetação e viveiro ou campo, a depender do modo de ação e da finalidade de uso do inoculantes. Quando as avaliações dos produtos forem realizadas apenas em casa de vegetação ou viveiro, os ensaios deverão ser conduzidos por pelo menos quatro vezes, com o emprego de diferentes cultivares, quando aplicável.

As avaliações de campo deverão ser conduzidas em, pelo menos, dois locais em condições edafoclimáticas distintas, tecnicamente adequadas à cultura, por no mínimo duas safras agrícolas ou, pelo menos em quatro locais em condições edafoclimáticas distintas tecnicamente adequadas à cultura em questão em uma única safra. Deve ser dada prioridade à condução dos experimentos em locais representativos da cultura.

Os ensaios que forem implantados mas não puderem ser colhidos por questões que fujam ao controle dos envolvidos com a pesquisa não serão considerados na totalização de ensaios realizados.

A critério do MAPA poderão ser exigidos ensaios de campo para comprovação de eficiência de novas tecnologias de inoculação.

Eventuais desvios do protocolo mínimo aqui apresentado deverão ser justificados tecnicamente no Relatório Técnico-Científico conclusivo (item 4.3.5).

## **3. CONDIÇÕES BÁSICAS PARA RECOMENDAÇÃO DE NOVAS CEPAS.**

Apresentação de Relatório Técnico-Científico conclusivo, conforme item 4.3.5, que atenda a todos os requisitos especificados para avaliação de cepas.

## **4. AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE CEPAS, INOCULANTES E TECNOLOGIAS DE INOCULAÇÃO.**

A metodologia aqui descrita é própria para soja, feijão, caupi e outras leguminosas, com as devidas adaptações técnicas e metodológicas para cada cultura como, por exemplo, exigência climática, espaçamento, época de plantio, cultivar recomendada, adubação e calagem.

#### 4.1. Testes de Laboratório

Cepas: As cepas apresentadas para oficialização deverão ser identificadas geneticamente e caracterizadas morfofisiologicamente.

Produtos: Os produtos formulados utilizados nos testes deverão ser caracterizados em laboratório quanto à identidade, pureza e concentração de microrganismos, conforme métodos oficiais.

Tecnologias: Na avaliação de novas tecnologias que envolvam a exposição das células a condições estressantes deverá ser conduzido ensaio laboratorial de sobrevivência de células sobre sementes, de acordo com método oficial. Os tratamentos que reproduzam condições estressantes como pré-inoculação ou exposição do inoculante a agentes daninhos às células deverão ser comparados com o tratamento controle. O tratamento controle deverá reproduzir a recomendação técnica, ou seja, determinação da sobrevivência do micro-organismo no mesmo dia da inoculação, sendo as bactérias protegidas dos fatores estressantes.

#### 4.2. Ensaio em Casa de Vegetação

Os ensaios em casa de vegetação devem ser conduzidos na avaliação de cepas e de produtos que se destinam ao uso em ambiente protegido.

A apresentação de resultados de avaliação em casa de vegetação de outros produtos inoculantes e de tecnologias é opcional.

##### 4.2.1. Tratamentos

1. Tratamento sem inoculação;
2. Tratamento sem inoculação, com N na concentração recomendada para a cultura\*
3. Tratamentos com inoculação de cepas já recomendadas para a cultura, testadas separadamente, quando existentes;
4. Tratamentos com inoculação das cepas a serem testadas separadamente.

\* O nitrogênio deverá ser parcelado semanalmente.

Exemplos de requerimento do nutriente por planta: Soja: 700mg; Feijão e Caupi: 350mg

4.2.2. Estágios de avaliação: as cepas ou produtos devem ser avaliados em vasos de Leonard e vasos com solo, com no mínimo quatro repetições para cada tratamento, conforme descrito:

4.2.2.1. Vasos de Leonard ou sistemas semelhantes que permitam o cultivo sob condições de substratos estéreis: Colocar sementes desinfestadas e ou plântulas em vasos Leonard autoclavados preenchidos com um substrato e solução nutritiva de Norris <sup>1</sup>, ou solução equivalente. Inocular conforme os objetivos de cada estudo.

4.2.2.2. Vasos com solo: Plantar as sementes desinfestadas em vasos com solo, preferencialmente livre ou com baixas populações de rizóbios e baixo teor de nitrogênio. Em solos com teores elevados de matéria orgânica adicionar palha de arroz ou milho na proporção de 1 a 3 gramas de palha por quilograma de solo seco, ou realizar outro procedimento para imobilização do N de fonte orgânica. Inocular conforme os objetivos de cada estudo.

Observação: Cuidados normais de assepsia devem ser observados durante o preparo dos vasos, inoculação e condução dos testes.

4.2.3. Parâmetros mínimos a serem avaliados:

Especificamente para seleção de cepas deve-se avaliar o número e a massa de nódulos secos (g/planta ou vaso). Na seleção de cepa e na avaliação de inoculantes devem também ser avaliados a massa seca da parte aérea (g/planta) de plantas cortadas no ponto de inserção dos cotilédones e nitrogênio total na massa seca (mg de N/planta). A eficiência nodular (mg de N da massa seca de planta/mg de nódulos secos) pode ser calculada a partir dos parâmetros determinados. Opcionalmente pode ser medido o teor de clorofila nas folhas.

Aos 35-40 dias após emergência fazer o corte das plantas e separar as raízes da parte aérea no ponto de inserção dos cotilédones. Separar os nódulos das raízes, contar, secar em estufa a 65° até atingir massa constante, apresentado o resultado em g/planta ou vaso. Secar a parte aérea das plantas, como descrito anteriormente, pesar, moer e determinar os teores de N na massa seca. Apresentar os resultados da massa seca das plantas em g/planta ou vaso, N total na massa seca em mg de N/planta. De posse dos parâmetros N total na massa seca (mg) e massa seca de nódulos (mg) determinar a eficiência nodular que é igual a mg de N total da massa seca dividido por mg de nódulos secos.

#### 4.3. Ensaio no Campo

A área a ser utilizada para instalação do experimento deve ser preparada e ter suas características químicas e físicas determinadas. Se possível fazer análise foliar da cultura anterior para facilitar a adubação com os macro e micronutrientes necessários.

O solo a ser utilizado não deverá apresentar população estabelecida do rizóbio em estudo. Na impossibilidade de atendimento deste requisito a população deverá ser quantificada e incluída no relatório técnico-científico.

Os experimentos deverão ser delineados a campo em blocos ao acaso com no mínimo quatro repetições. A semeadura das parcelas deverá ser feita de forma a evitar contaminação entre as parcelas experimentais. As parcelas experimentais deverão ter uma dimensão que possibilite uma área útil experimental suficientemente representativa. No caso específico da soja e feijão as parcelas deverão ter tamanho mínimo de 24,0 e 10 m<sup>2</sup>, área útil mínima de 6,0 e 4,0 m<sup>2</sup>, respectivamente, observados distância mínima entre parcelas de um metro para evitar contaminações. Sugere-se para soja: parcelas de 4 x 6 m (oito linhas espaçadas de 0,5 m) colhendo as 4 linhas centrais ou 5 x 5 m (dez linhas espaçadas 0,5 m) colhendo as seis linhas centrais, deixando sempre um metro de bordadura nas cabeceiras.

##### 4.3.1. Tratamentos:

O experimento de campo deverá conter, no mínimo, os seguintes tratamentos:

Tratamento 1. Ausência de fertilizante nitrogenado e de inoculação;

Tratamento 2. Controle com N-mineral;

Tratamento 3. Inoculação padrão com inoculante turfoso contendo ao menos uma das cepas recomendadas para a cultura, quando existente.

Tratamento 4. Demais tratamentos a serem testados – seguir a recomendação técnica do proponente.

Observações:

Tratamento 2. As seguintes doses e formas de aplicação de nitrogênio são recomendadas:

Soja - 200 kg de N/ha, sendo 50% na semeadura e 50% na floração ou aos 35 dias após emergência, por ocasião da coleta de plantas;

Feijão - 80 kg de N/ha, sendo 20 kg no plantio e 60 kg aos 20-25 dias após emergência;

Caupi - 70 kg de N/ha, sendo 35 kg no plantio e 35 kg aos 20-25 dias após emergência;

Tratamento 3. A inoculação padrão consiste em umedecer as sementes com água açucarada a 10%, usando no máximo 300 ml por 50 kg de sementes, e aplicação de acordo com a recomendação técnica (em número de UFC por semente) de um inoculante turfoso com população mínima legalmente

estabelecida. O cálculo do número de células por semente deve tomar por base que um kg de semente de soja tem 7000 sementes e um kg de feijão ou de caupi tem 5000 sementes. Para outras espécies, considerar o número de sementes por quilograma. As sementes inoculadas devem secar em local fresco e arejado e a semeadura deve ser feita imediatamente após a secagem, em período não superior a duas horas. Como a maioria dos produtos químicos pode ser tóxica quando em contato direto com a bactéria, os insumos usados para tratamento de sementes (micronutrientes, fungicidas e inseticidas) devem ser evitados ou, se utilizados, não devem ter contato direto com o inoculante. No caso de ser necessária a aplicação de micronutrientes, recomenda-se que a aplicação seja feita por pulverização foliar antes da floração na mesma dose recomendada para as sementes ou segundo as recomendações técnicas para cada cultura e região.

Recomendação Geral: Sempre usar a mesma população de células para a inoculação padrão e para os inoculantes ou cepas em teste. No caso de inoculantes líquidos, o total de líquido a ser aplicado nas sementes não deve ultrapassar 300 ml por 50 kg de sementes.

#### *4.3.2. Parâmetros mínimos a serem avaliados a campo:*

##### 4.3.2.1. Caracterização química e física do solo

Devem ser realizadas as análises químicas necessárias à verificação do requerimento de adubação. A classificação do solo e sua classe textural deverão ser informadas.

##### 4.3.2.2. População de rizóbio

O solo da área experimental deverá ter a população de rizóbios determinada.

##### 4.3.2.3. Nodulação

Coletar cinco plantas com as raízes intactas, da área central da segunda linha de cada parcela, imediatamente antes da floração (no caso da soja aos 30 - 35 dias após emergência).

Apresentar resultados para número de nódulos por planta (nº/planta) e massa de nódulos seca por planta (mg/planta).

##### 4.3.2.4. A avaliação da biomassa e nitrogênio total da parte aérea das plantas

Deve ser feita por ocasião da coleta de nódulos.

##### 4.3.2.5 Rendimento de Grãos

O rendimento de grãos deve ser corrigido para 13% de umidade e expresso em kg/ha. Determinar os teores de N nos grãos e expressar em mg/kg e o N total nos grãos expressar em kg de N/ha.

##### 4.3.2.6. Demais parâmetros

Culturas florestais: Produção de biomassa de plantas (parte aérea e/ou raízes), conforme especificação da cultura, altura de plantas, diâmetro de caule, sobrevivência das mudas e concentração do(s) nutriente(s).

Forrageiras: Produção de biomassa de plantas (parte aérea e/ou raízes), conforme especificação da cultura, altura de plantas, concentração do(s) nutriente(s) em estudo.

#### 4.3.3. Análise estatística

Os resultados devem ser submetidos à análise de variância e, quando o teste “F” for significativo a 5%, as médias dos tratamentos deverão ser comparadas por um teste de média adequado, também ao nível de 5% de significância. Se o teste de “F” não for significativa a 5% mas apresentar significância

a 10%, as médias dos tratamentos deverão ser comparadas pelo teste de média, também ao nível de 10% de significância.

#### 4.3.4. Interpretação dos Resultados

Para recomendação de inoculantes e/ou outras tecnologias, estes devem apresentar resposta igual ou superior à inoculação padrão e/ou às tecnologias já recomendadas, respectivamente, e superior ao controle sem inoculação nos quatro ensaios. Para recomendação de nova cepa, esta deve apresentar resposta igual ou superior a pelo menos uma cepa já recomendada para a mesma cultura, e superior ao controle sem inoculação nos quatro ensaios. No caso da condução de um maior número de experimentos, o número de casos positivos deve representar pelo menos 70% do total.

A produtividade mínima a ser considerada para que o resultado do experimento seja considerado válido deve ser de 2000 kg/ha para soja, de 1000 kg/ha para feijão e de 500kg/ha para Caupi,.

#### 4.3.5. Relatório Técnico-Científico

O relatório técnico-científico deve ser redigido em língua portuguesa, em papel timbrado da instituição e seguir as orientações deste protocolo contendo: revisão bibliográfica enfatizando o objetivo do trabalho, descrição completa da metodologia, resultados obtidos e conclusão clara sobre a eficiência e recomendação do produto ou tecnologia testada, assim como a(s) assinatura (s) do(s) pesquisador(es) responsável(is). Análise dos custos variáveis entre os controles e o produto ou a tecnologia testada poderá ser incluída, a critério da requerente.

<sup>1</sup>NORRIS, D.O., DATE, R.A. 1976. Legume bacteriology. In: SHAW, N.H., BRYAN, W.W. (Eds.) Tropical pasture research - principles and methods. Brisbane: CAB. p.134-173.

Protocolo elaborado com base no “Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, cepas e outras tecnologias relacionada ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas” descrito nos Anais da 13ª Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE). Londrina: EMBRAPA SOJA, 2007. 212 p. – (Documento/Embrapa Soja, n.290).