



Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
URUGUAY

ISSN: 1688-9258



2º SIMPOSIO MICROORGANISMOS PARA LA AGRICULTURA

27 y 28 de setiembre 2022 - INIA Las Brujas

Recursos Naturales, Producción y Ambiente
Plataforma de Bioinsumos
Serie Actividades de Difusión N° 801
27 y 28 de setiembre, 2022

LAS BRUJAS 

The logo for Las Brujas features a stylized white leaf or plant icon inside a circle.

INIA Las Brujas

Setiembre de 2022

Serie de Actividades de Difusión N° 801

ISSN 1688-9258

2º Simposio Microorganismos para la Agricultura

Editores: Dr. Eduardo Abreo, Dra. Elena Behyhaut, Dr. Federico Rivas

Plataforma de Bioinsumos – Recursos Naturales, Producción y Ambiente

Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología, INIA

© 2022, INIA

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Integración de la Junta Directiva

Ing. Agr. José Bonica - Presidente

Ing. Agr. Walter Baethgen - Vicepresidente



Ministerio
**de Ganadería,
Agricultura y Pesca**

Ing. Agr. Martín Gortari

Ing. Agr. Rafael Normey



Ing. Agr. Alberto Bozzo

Ing. Agr. Alejandro Henry



COMITÉ ORGANIZADOR

Dr. Eduardo Abreo

Dra. Elena Beyhaut

Dr. Federico Rivas

Dra. Silvia Garaycochea

Dra. Nora Altier

Ing. Agr. Carolina Fasiolo

Dra. Verónica Ciganda

COMITÉ ACADÉMICO

Dr. Eduardo Abreo, INIA Las Brujas

Dra. Nora Altier, INIA Las Brujas

Dr. Federico Battistoni, IIBCE, MEC

Dra. Elena Beyhaut, INIA Las Brujas

Dra. Elena Fabiano, IIBCE, MEC

Dra. Ana Fernández, Facultad de Química, Udelar

Dr. Pablo Fresia, INIA – Instituto Pasteur Montevideo

Dra. Carolina Leoni, INIA Las Brujas

Dra. Sandra Lupo, Facultad de Ciencias, Udelar

Dr. Pedro Mondino, Facultad de Agronomía, Udelar

Dra. María Morel, Facultad de Ciencias, Udelar

Dra. Silvia Pereyra, INIA La Estanzuela

Dr. Federico Rivas, INIA Las Brujas

Dra. Andrea Rodríguez, Facultad de Agronomía, Udelar

Dra. Patricia Vaz, IIBCE, MEC - Facultad de Ciencias, Udelar

Equipo de apoyo:

Claudia Barlocco, Beatriz Dini, Mariana Mortalena, Natalia Mattos, Valeria López.

Índice

Prólogo.....	1
--------------	---

MÓDULO 1

O1: Una mirada integral de la promoción del crecimiento vegetal mediada por microorganismos. Battistoni F.	3
O2: Bacillus mineralizadores de fósforo en soja: efecto sobre la nutrición, el rendimiento y la comunidad de bacterias de la rizosfera Torres P.	4
O3: Eficiencia agronómica y minería genómica de propiedades PGPR de la bacteria rizosférica bioestimulante de trigo <i>Pseudomonas pergaminensis</i> sp. nov. 1008T. Díaz M.	5
O4: Búsqueda en la cepa endófito promotora del crecimiento vegetal <i>Rhizobium</i> sp. UYSO24 de mecanismos involucrados en la interacción con plantas Taulé C.	6
P1: Análisis genómico del aislamiento <i>Pseudomonas</i> sp. BP01: posible definición de una nueva especie dentro del grupo <i>P. putida</i> Agaras B.	7
P2: Capacidad de promoción del crecimiento vegetal de beta-rizobios simbioses de leguminosas nativas. Eastman I.	8
P3: Caracterización de cepas de rizobios naturalizadas que nodulan soja en Uruguay: tolerancia a factores ambientales y promoción del crecimiento Fornero C.	9
eP4: Inoculación de bacterias endofíticas de <i>Nicandra physalodes</i> (Linn.) Gaertn “Capulí cimarrón” incrementa el índice de vigor en <i>Solanum lycopersicum</i> (L). “tomate” variedad Rio Grande. Valdez-Nuñez RA.	10
P5: Diversidad y especificidad de rizobios simbioses de especies nativas de lupinos. Costa A	11

MÓDULO 2

O5: <i>Back to the roots.</i> Carrion V.	13
O6: Mapeo asociativo de la fijación biológica de nitrógeno en germoplasma avanzado del programa de mejoramiento genético de soja de INIA. Ruiz González S.	14
O7: El microbioma endofítico de semilla al rescate de las razas criollas de maíz en Uruguay. Trasante T	15
O8: La salud del suelo se mantiene mediante la agricultura conservacionista en un sistema de cultivos de grano y pasturas. Ceretto V	16
P6: Microbioma del suelo y cambios asociados a diferentes usos del campo natural Giménez M	17
P7: Exploración de la microbiota bacteriana cultivable de semillas de especies leñosas nativas ribereñas del Río Uruguay. Silva C.	18

MÓDULO 3

O9: Control biológico: integrando ecología, biotecnologías y <i>omics</i> para una nueva generación de controladores. Abreo E	20
O10: Estudio de inóculos definidos como controladores biológicos de <i>A. flavus</i> en silos de grano húmedo de sorgo. Gonda M	21
O11: Conociendo al enemigo: Hidrocarburos epicuticulares de insectos plaga y su utilización para el biocontrol. Sessa L	22
O12: ¿Podemos mejorar una cepa de <i>Beauveria bassiana</i> biocontroladora de la chinche de la soja <i>Piezodorus guildinii</i> combinando métodos de biología molecular y datos de secuenciación masiva? Oberti H	23
P8: Control biológico de <i>Gonipterus platensis</i> . Tiscornia S	24
P9: <i>Bacillus</i> sp. UY6A, una cepa aislada de nódulo de <i>Lupinus multiflorus</i> con características promisorias como agente de control biológico. Costa A	25
P10: Biopreparados para la producción agroecológica. Rodríguez N	26
P11: Desarrollo del biofungicida CREBIO 4 con aislamiento nativo de <i>Trichoderma asperellum</i> para el control de fitopatógenos del tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>). Rodríguez dos Santos A	27
P12: Desarrollo del bioinsecticida de trips CREBIO 3 con aislamiento nativo de <i>Metarhizium anisoplaea</i> para el control de trips (<i>Frankliniella occidentalis</i>) en lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.). Rodríguez dos Santos A	28
eP13 Efecto nematocida de bacterias endófitas sobre <i>Meloidogyne</i> sp. (Nematodo del nudo) Varas N	29

MÓDULO 4

O13: Sistemas de entrega para bioinsumos: Inmovilización en cápsulas de hidrogel y recubrimiento de semillas. Cruz Barrera FM	31
O14: Formulación en polvo de una cepa de <i>Trichoderma asperellum</i> pre-seleccionada por la capacidad de promoción del crecimiento vegetal y biocontrol. Olivera M	32
O15: Selección y caracterización de aislamientos de <i>Metarhizium</i> spp. compatible con <i>Bradyrhizobium elkanii</i> , para el desarrollo de un bioinsumo que mejore la sanidad del cultivo de soja. Iglesias I	33
O16: Desarrollo de <i>films</i> a partir de polímeros lignocelulósicos para el encapsulamiento de bioinsumos de uso agrícola. Guibaud A	34
P 14: Síntesis de nanopartículas biogénicas a partir de <i>Trichoderma</i> spp. y su aplicación en el control de fitopatógenos. Sanguñedo P	35

MÓDULO 5

O17: Introducción de agentes de control biológico en el manejo integrado de plagas en horticultura. Vieta A	37
O18: Experiencia de una empresa nacional de biotecnología aplicada a la agricultura Krismanich G, Diana R.	38
O19: Co-innovación para el escalamiento del uso del biogarrapaticida CREBIO 7 como herramienta de manejo de garrapatas del ganado <i>Rhipicephalus microplus</i> en sistemas ganaderos en transición agroecológica. Rodríguez dos Santos A.	39
O20: Rizobacter y su objetivo de ofrecer al mundo productos microbiológicos innovadores para la agricultura. Montero F	40
O21: Insumos biológicos en la agricultura – una visión desde la industria. Lage M	41
P15: Compuestos derivados de Microorganismos. Diaz N.	42
P16: Sistema uruguayo de fiscalización de inoculantes: complementación interinstitucional Barlocco C.	43
REPRODUCCIÓN DE POSTERS	44

2º SIMPOSIO

MICROORGANISMOS PARA LA AGRICULTURA

PRÓLOGO

El 2º Simposio “Microorganismos para la Agricultura” tiene lugar en un periodo de expansión agrícola, que ha sido acompañado por problemas en las cadenas internacionales de suministros, aumento de precios de los fertilizantes y de los principales insumos químicos que se utilizan en la producción. Desde la demanda de la sociedad y el sector productivo, ha ganado relevancia la dimensión ambiental de la producción agropecuaria, que implica nuevos desafíos para la investigación. La aplicación de prácticas integrales en el manejo de los cultivos, tendientes a reducir el uso de agroquímicos, se ha complementado con la investigación y desarrollo de insumos biológicos, como los formulados en base a microorganismos, que sustituyan al menos parcialmente a los insumos químicos. En ese contexto, la investigación nacional en microorganismos de uso agrícola se ha consolidado en varias instituciones, empresas y organizaciones sociales que conforman un ecosistema complejo, con enfoques diversos y complementarios, que apuntan a la generación de una agricultura biológica, basada en el manejo de las interacciones positivas entre plantas y microorganismos locales.

En los trabajos que se incluyen en esta publicación, se reúne una rica experiencia académica que abarca la búsqueda, selección, formulación y aplicación de microorganismos promotores de crecimiento, así como controladores biológicos de enfermedades y plagas. Sumado a lo anterior, el saber hacer de empresas productoras de bioinsumos de diverso porte, nacionales e internacionales, y usuarios finales de insumos biológicos aportan una visión aplicada sobre los desafíos tecnológicos de una agricultura cada vez más biológica. Por todo esto, el simposio conforma un ámbito de comunicación e intercambio ineludible entre todos los interesados en el desarrollo, uso y control de insumos biológicos para una agricultura más sustentable en las dimensiones ambiental, productiva y social.

Comité organizador

Las Brujas, 27 y 28 de Setiembre, 2022.

Módulo 1: Promoción del crecimiento vegetal mediada por microorganismos



Cosecha de soja cv Genesis 5602 coinoculada con *Bradyrhizobium elkanii* U1301, U1302 y *Priestia megaterium* ILBB592, INIA La Estanzuela 2021 (Foto E. Abreo).

O1: Una mirada integral de la promoción del crecimiento vegetal mediada por microorganismos

Dr Federico J. Battistoni Urrutia

Profesor Agregado de Investigación. Laboratorio de Interacción Planta Microorganismo, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura
fbattistoni@iibce.edu.uy

Los sistemas productivos agrícolas actuales se basan en la aplicación de grandes cantidades de agroquímicos para lograr el óptimo crecimiento, rendimiento y sanidad de los cultivos. Estos provocan graves problemas de sustentabilidad ambiental con repercusiones económicas considerables que conllevan la necesidad de desarrollar nuevas alternativas tecnológicas en los sistemas productivos agrícolas. Estas tecnologías, se deben pensar con un enfoque diferente a los paradigmas heredados de la revolución verde incorporando una mirada holística integradora del sistema suelo-planta-ambiente. Este nuevo enfoque visualiza a la planta como un ser complejo: el holobionte (Holo=todo, Bionte=organismo), definido como la suma de todos los macro y microorganismos que viven asociados a ella. Particularmente, dentro de los microorganismos asociados se encuentran las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV). Estas proveen funciones y características específicas, determinando el crecimiento y estado de salud de la planta, y representan una excelente alternativa al uso de agroquímicos al emplearse como bioinoculantes. El fenotipo que el holobionte planta expresa, es el resultante de todas las interacciones internas (con macro y microorganismos), y externas (suelo, ambiente, bioinoculantes, paquetes tecnológicos). Durante el desarrollo de bioinoculantes basado en BPCV, es importante considerar estas interacciones y de ser posible evaluarlas. En esta exposición se presentarán diferentes abordajes empleados en la búsqueda y selección de BPCV para su desarrollo como bioinoculantes en cultivos de interés agrícola, considerando este tipo de interacciones en el holobionte planta.

O2: *Bacillus* mineralizadores de fósforo en soja: efecto sobre la nutrición, el rendimiento y la comunidad de bacterias de la rizosfera

Torres P¹, Beyhaut E¹, Altier N¹, Fresia P², Garaycochea S¹, Martin N¹, Rego N³, Crispo N³, Lage M⁴, Arrospide G⁵, Sundberg G⁶, Cuitiño MJ⁷, Abreo E¹

¹Plataforma Bioinsumos, INIA Las Brujas, Canelones, Uruguay, ²Unidad Mixta Pasteur + INIA (UMPI), ³ Instituto Pasteur Montevideo, ⁴Lallemand Inc (Lage y Cía), ⁵Lallemand Inc (CALISTER S.A), ⁶Lafoner S.A, ⁷Programa de Investigación en Cultivos de Secano INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay

ptorres@inia.or.guy

Una de las estrategias para aumentar la disponibilidad del fósforo (P) en el suelo y mitigar sus pérdidas en sistemas agrícolas es el uso de bacterias movilizadoras de P, que aumentan su disponibilidad para las plantas mediante la solubilización y/o mineralización del P del suelo. La co-inoculación de semillas de soja (*Glycine max* L.) con un formulado de esporas de *Bacillus* mineralizadores de P (BMP) y rizobios fue evaluado en un ensayo de campo. El experimento fue realizado en la estación experimental de INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay. Los tratamientos fueron parcelas con y sin fertilización fosfatada (7,7 y 15 $\mu\text{g g}^{-1}$ de P disponible, respectivamente), y dos formas de inoculación (1) semillas de soja inoculadas solo con *Bradyrhizobium elkanii*, y (2) semillas de soja co-inoculadas con *Bradyrhizobium elkanii* más un formulado de esporas de *Priestia megaterium* (*Bacillus megaterium*) ILBB592 o de *Bacillus pumilus* ILBB44. La comunidad de bacterias de la rizosfera de las plantas de soja fue analizada a los 30 días después de la siembra, amplificando y secuenciando el gen 16S ARNr. Los resultados mostraron que el P en planta y el rendimiento aumentaron cuando se combinó la aplicación de fertilizante P y la co-inoculación con los BMP. La aplicación de fertilizante P tuvo un efecto sobre la comunidad de bacterias de la rizosfera incrementando la abundancia relativa de las Actinobacterias y reduciendo las Proteobacterias. En contraste, cuando se fertilizó con P y se co-inoculó con las BPM, la abundancia relativa de Actinobacterias disminuyó y aumentaron Proteobacterias y Firmicutes. Estos resultados sugieren que una fertilización fosfatada reducida complementada con la co-inoculación de las semillas con BMP mejoran la nutrición fosfatada del cultivo de soja y además producen cambios en la comunidad de bacterias de la rizosfera favorables al cultivo.

Financiamiento: proyecto ALI_1_2014_1_5056_ANII

O3: Eficiencia agronómica y minería genómica de propiedades PGPR de la bacteria rizosférica bioestimulante de trigo *Pseudomonas pergaminensis* sp. nov. 1008^T.

Marisa Díaz¹, Teresa Bach², Gustavo González Anta³, Betina Agaras⁴, Daniel Wibberg⁵, Fabián Noguera², Wilter Canciani¹, Claudio Valverde⁴.

¹ Rizobacter Argentina S.A. ² Profesional Independiente. ³ Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Universidad Nacional de San Antonio de Areco (UNSAdeA), Indrasa Biotecnología S.A. ⁴ LFGBBP-CBMS Universidad Nacional de Quilmes (UNQ)-CONICET. ⁵ CeBiTec, Alemania.

mdiaz@rizobacter.com.ar, cvalver@unq.edu.ar

La cepa *Pseudomonas* sp. 1008 se aisló de la rizosfera de plantas de trigo en etapa de macollaje en una parcela agrícola cerca de la ciudad de Pergamino, Argentina. En base a su capacidad solubilizadora de fosfato y a la producción de IAA *in vitro*, la cepa 1008 se formuló como un inoculante para la bacterización de semillas de trigo y se sometió a múltiples ensayos de campo en el período 2010-2017. La cepa 1008 mostró un impacto positivo en el rendimiento de grano (+8% en promedio) en todas las campañas, e independientemente de las propiedades del suelo, los genotipos de semillas evaluados y del tratamiento simultáneo con fungicida, lo que en conjunto respalda firmemente el uso de esta bacteria bioestimulante como insumo agrícola para promover el rendimiento de cultivos, en especial de trigo. La secuenciación completa del genoma reveló que la cepa 1008 tiene la capacidad de acceder a varias fuentes de fósforo inorgánico y orgánico, competir por el acceso al hierro, producir auxina, 2,3-butanodiol y acetoína, y metabolizar GABA. Además, el genoma de la cepa 1008 alberga múltiples loci relacionados con la competitividad de la rizosfera, pero carece de *clusters* biosintéticos para la producción de metabolitos especializados típicos de especies biocontroladoras del género *Pseudomonas*. Finalmente, el análisis filogenómico, fenotípico y quimiotaxonómico de la cepa 1008 en comparación con taxones relacionados sugiere fuertemente que este aislamiento bioestimulante rizosférico es un representante de una nueva especie dentro del género *Pseudomonas*, para la cual se propone la denominación *Pseudomonas pergaminensis* sp. nov. (cepa tipo 1008^T = DSM 113453^T = ATCC TSD-287^T).

O4: Búsqueda en la cepa endófitra promotora del crecimiento vegetal *Rhizobium* sp. UYSO24 de mecanismos involucrados en la interacción con plantas

Cecilia Taulé, Martín Beracochea, Federico Battistoni

Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Ministerio de Educación y Cultura. Montevideo, Uruguay.
ctaule@iibce.edu.uy

La cepa *Rhizobium* sp. UYSO24 fue aislada a partir de tallos de caña de azúcar var. TUC7742 desinfectados en la superficie. La misma demostró ser una cepa endófitra y promotora del crecimiento vegetal (PCV) de plantas micropropagadas de caña de azúcar LCP85384, en condiciones *in vitro*. UYSO24 produce ácido indol-acético *in vitro*, siendo un posible mecanismo relacionado a la PCV. Asimismo presenta actividad endoglucanasa y lacasa, así como capacidad de formar biopelículas, características probablemente involucradas en la interacción planta-bacteria.

El objetivo de este trabajo fue profundizar en la caracterización de la cepa *Rhizobium* sp. UYSO24 como promotora del crecimiento vegetal.

En primera instancia se evaluó y comprobó su capacidad PCV al ser inoculada en plantas de caña de azúcar (var. LCP85384 y TUC7742), en condiciones de invernáculo. Posteriormente y con el objetivo de identificar posibles mecanismos involucrados en la interacción con las plantas no evaluados previamente, se determinó la presencia de la enzima ACC desaminasa, de flagelos y la capacidad de moverse tipo swimming. Asimismo, se secuenció (tecnología Ion Torrent PGM), ensambló (mediante SPAdes genome assembler version 3.11.1) y anotó el genoma utilizando la plataforma de RAST. El genoma de la cepa UYSO24 presentó genes relacionados con la colonización de plantas y la PCV, incluyendo la motilidad flagelar, producción de sideróforos, síntesis de ACC desaminasa y genes involucrados en la biosíntesis de los sistemas de secreción tipo II, IV y V. A pesar de que la cepa UYSO24 pertenece al género *Rhizobium* no contienen genes *nod* ni *fix*.

Fuentes de financiamiento: INIA-FPTA, ANII, PEDECIBA-Biología, CAP

P1: Análisis genómico del aislamiento *Pseudomonas* sp. BP01: posible definición de una nueva especie dentro del grupo *P. putida*

Agaras B¹, Herán J², Iriarte A², Heeb S³, Camara M⁴, Valverde C¹, Sobrero P¹

¹Laboratorio de Fisiología y Genética de Bacterias Beneficiosas para Plantas, Depto. de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina.

²Laboratorio de Biología Computacional, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³Synthetic Biology Research Centre, University of Nottingham, UK

⁴National Biofilm Innovations Centre, University of Nottingham, UK

betina_agaras@yahoo.com.ar

Diversos representantes del género *Pseudomonas* poseen actividades probióticas vegetales, convirtiéndolos en blancos interesantes para el desarrollo de agrobioinsumos. A partir de rizósfera de pasturas obtuvimos el aislamiento BP01, cuya pigmentación oscura es un rasgo poco descrito en este género. Como mostró actividad antibacteriana contra patógenos foliares relacionada a la producción del pigmento, secuenciamos su genoma con Illumina HiSeq 2500. Las lecturas se ensamblaron con SPAdes v3.14.1, obteniendo 220 *contigs* con un largo total de 6.322.006 pb, porcentaje de GC de 62,17% y profundidad de cobertura promedio de 104X.

Los análisis de identidad nucleotídica y aminoacídica realizados con Edgar 3.0 mostraron similitudes del 97,7% y 98,7%, respectivamente, con el aislamiento *P. putida* S13.1.2. Sin embargo, con la cepa tipo *P. putida* NBRC 14164 obtuvimos valores inferiores al corte para asignar especie (94,8% y 97,2%, respectivamente). La evaluación de la hibridación digital de ADN realizada en el servidor TYGS mostró un valor alto con S13.1.2 (80,2), pero no con NBRC 14164 (60). Estos datos nos hicieron sospechar de la asignación de S13.1.2 como *P. putida*, la cual se efectuó sólo a partir del gen 16S ADNr y está siendo cuestionada en bibliografía reciente.

Construimos clones defectuosos en la producción del pigmento por mutagénesis al azar con el trasposón Tn5, y pudimos detectar la existencia de un segundo *cluster* de genes relacionados al metabolismo del triptófano, los cuales podrían estar vinculados en la producción del pigmento. Con GCView pudimos observar que dicho *cluster* no se encuentra presente en los genomas de S13.1.2 ni de NBRC 14164. Asimismo, detectamos que a diferentes temperaturas de incubación la coloración del pigmento en fase estacionaria varía entre tonos azulados y grisáceos.

Por lo tanto, BP01 pertenecería a una nueva especie dentro del grupo *P. putida*, y produciría uno o más pigmentos oscuros en determinadas condiciones de crecimiento.

P2: Capacidad de promoción del crecimiento vegetal de beta-rizobios simbiotes de leguminosas nativas

Ignacio Eastman, Cecilia Rodríguez-Esperón, Virginia Ferreira, Verónica Alonso, Virginia Armand Ugón, Marcela Rondoni, Elena Fabiano y Raúl Platero.

Laboratorio de Microbiología Ambiental. Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Ministerio de Educación y Cultura.
platero.iibce@gmail.com

Los rizobios son bacterias del suelo capaces de asociarse simbióticamente con las leguminosas. Durante esta asociación, las bacterias se alojan en las raíces y tallos de las plantas hospederas y llevan adelante el proceso de fijación biológica del nitrógeno (FBN). Mediante la FBN, las plantas obtienen el nitrógeno necesario para su desarrollo sin la necesidad del agregado de fertilizantes nitrogenados, disminuyendo el impacto indeseado de su uso. En nuestro país existen más de 190 especies de leguminosas nativas. La mayoría de las especies analizadas son capaces de formar asociaciones simbióticas con rizobios, sin embargo, es relativamente poco lo que se sabe sobre la capacidad PGPR de los mismos. Nuestro grupo de investigación está interesado en conocer la diversidad y capacidad de promoción de rizobios asociados a leguminosas nativas, en particular a aquellas pertenecientes al clado Mimosoide dentro de la subfamilia Caesalpinioideae. Disponemos de una colección de simbiotes aislados a partir de nódulos de 18 leguminosas nativas, los cuales han sido identificados mediante técnicas moleculares y clasificados dentro de los géneros *Cupriavidus* y *Paraburkholderia*. Los genomas de algunas cepas representativas fueron secuenciados y sus características PGPR analizadas *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. Los resultados obtenidos indican que nuestro país es reservorio de nuevas especies de rizobios pertenecientes a las beta-proteobacterias. Los genomas de estos codifican diversos mecanismos para la promoción del crecimiento vegetal tales como la FBN y la producción y modulación de fitohormonas. Además, estas bacterias tienen la capacidad intrínseca de resistir la presencia de metales pesados y degradar compuestos aromáticos tóxicos para las plantas. Concluimos que la selección y uso de sistemas simbióticos formados por leguminosas nativas y beta-rizobios no solo permite conservar la biodiversidad de nuestro país, sino que puede ser una estrategia para la biorremediación y recuperación de ambientes degradados y contaminados.

Financiación: PEDECIBA, IIBCE, ANII.

P3: Caracterización de cepas de rizobios naturalizadas que nodulan soja en Uruguay: tolerancia a factores ambientales y promoción del crecimiento

Fornero C¹, Beyhaut E², Rodríguez-Blanco A¹

¹Microbiología, Facultad de Agronomía, UdelaR, Montevideo, Uruguay

²Microbiología de Suelos, INIA Las Brujas, Uruguay

cecifornero@gmail.com

La soja (*Glycine max* L. Merr) es el cultivo de verano con mayor área de siembra en Uruguay. La inoculación de soja con cepas de rizobios eficientes hace innecesario el uso de fertilizantes nitrogenados lo que representa un beneficio económico y ambiental. El uso de inoculantes está ampliamente extendido en nuestro país donde los inoculantes se formulan con dos cepas de *Bradyrhizobium elkanii* (U1301 y U1302). En trabajos anteriores se aislaron e identificaron 5 cepas naturalizadas de la especie *B. elkanii*, 4 de *B. japonicum* y 1 de *Bradyrhizobium* sp. que mostraron eficiencia en soja en condiciones controladas. El estudio de cepas naturalizadas es altamente relevante debido a sup probable adaptación a las condiciones edafoclimáticas locales. Además, es posible que existan cepas con mayor capacidad de promover el crecimiento vegetal que permita el desarrollo de mejores inoculantes. En este trabajo se caracterizaron 10 cepas de rizobios naturalizadas y 4 comerciales utilizadas en los inoculantes de Uruguay y la región. Se evaluó la adaptación a factores ambientales (temperatura, salinidad, pH) y características promotoras del crecimiento (solubilización de fosfato y producción de ácido indol acético AIA). El crecimiento de las cepas se inhibió a 40°C y con 1% de NaCl. La cepa U1301 y dos de las cepas naturalizadas de *B. elkanii* crecieron a 37°C, mientras que la cepa U1302 y dos de las cepas naturalizadas de *B. elkanii* crecieron con 0,5% de NaCl. Las cepas U1301, U1302 y las 5 naturalizadas de *B. elkanii* fueron capaces de crecer a pH 5,5. Estas 7 cepas más la cepa CA2 *Bradyrhizobium* sp. produjeron AIA. Ninguna de las cepas solubilizó fosfato tricálcico. Las cepas naturalizadas de *B. elkanii* mostraron mayor adaptación a factores ambientales y producción de AIA lo que justifica seguir evaluando estas cepas en ensayos en suelo que permitan comprobar estas características.

eP4: Inoculación de bacterias endofíticas de *Nicandra physalodes* (Linn.) Gaertn “Capulí cimarrón” incrementa el índice de vigor en *Solanum lycopersicum* (L). “tomate” variedad Rio Grande.

Valdez-Nuñez R A^{1,3*}, Andrés-Blas JA², Cuba-Gutiérrez EM²

¹ Laboratorio de Investigación y Biotecnología. Departamento de Ciencias Básicas y Afines. Universidad Nacional de Barranca, Barranca, Lima-Perú. ² Escuela de Ingeniería Agrónoma. Universidad Nacional de Barranca-Perú. ³ Grupo de Investigación en Bioprospección y Biotecnología Microbiana (BIOBIM).

rvaldez@unab.edu.pe

La agricultura moderna requiere estrategias innovadoras, siendo la bioprospección de recursos microbianos procedente de plantas nativas hacia cultivos domesticados, una alternativa a considerar. El objetivo de la investigación fue el aislamiento, purificación, conservación y evaluación de la promoción de crecimiento de bacterias endófitas aisladas de *Nicandra physalodes* “Capulí cimarrón” a través de la inoculación en *Solanum lycopersicum* “tomate”. Se colectaron 5 plantas creciendo en campos del fundo experimental “Los Anitos”- Barranca. Raíz, tallo, hojas y semillas, fueron esterilizadas y enjuagadas con agua destilada estéril. Los últimos enjuagues de los tratamientos fueron sembrados en caldo Soya Triptona (TSB) e incubado toda la noche a 30°C, aquellos que no mostraron crecimiento, fueron considerados positivos en el proceso de esterilización. Los tejidos esterilizados fueron triturados en Solución Salina Fisiológica estéril (SSFe) y estriados en agar soya Triptona (TSA). La purificación de los aislamientos se realizó en TSA, siendo codificados y criopreservados en glicerol al 30% a -20°C. Se determinó el efecto de la inoculación de las cepas sobre el porcentaje de germinación (%), longitud radical (cm), longitud de tallo (cm) e índice de vigor (%) en tomate variedad Rio Grande. Se obtuvieron 18 aislados endófitos, todos de forma bacilar, 77.8% fueron Gram positivos, de los que solo el 42.9% fueron esporulados. Las cepas 2.1; 9.1; 2.2 y 2.3 presentaron un índice de vigor (%) significativamente superiores en un 19,6; 18,5; 17,7 y 13,1% respecto a la cepa testigo *Bacillus siamensis* SM3. Se realizará la identificación taxonómica y los posibles mecanismos PGPR involucrados, para proseguir los ensayos a nivel de invernadero. Se concluye que *N. physalodes* constituye un reservorio de bacterias endófitas con potencial de promover el crecimiento de tomate.

Financiamiento: Agradecimiento a la Universidad Nacional de Barranca, por el financiamiento obtenido a través del concurso de Iniciación científica para grupos estudiantiles dedicados a la investigación en ciencia, tecnología e innovación (GEI), con resolución N° 552-2019-UNAB/N°710-2019-UNAB.

P5: Diversidad y especificidad de rizobios simbiotes de especies nativas de lupinos

Costa A¹, Panzera M¹, Viera F¹, Zabaleta M², Amarelle V¹, Fabiano E¹

¹Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC. ² Licenciatura de Diseño de Paisaje. Facultad de Agronomía, Universidad de la República
andrescosta1991@gmail.com

Lupinus es un género de leguminosas que cuenta con más de 280 especies descritas, distribuidas mayormente en el continente americano. Varias especies han sido mejoradas a lo largo de los siglos convirtiéndose en un gran potencial para la alimentación humana y animal ya que sus granos pueden contener entre un 30-50% de su peso seco en proteínas. *Lupinus angustifolius* es un cultivar invernal no nativo de Uruguay, que desde hace cuatro años se viene usando como alimento de ganado ovino y bovino, y el cual conlleva el agregado de un inoculante de rizobio comercial. Considerando que prácticamente se desconocen las poblaciones de rizobios presentes en nuestros suelos capaces de asociarse a plantas de Lupinos, nos propusimos relevar las especies nativas de Lupinos y los microsimbiontes presentes en sus nódulos. Se colectaron plantas y nódulos en diferentes localidades distribuidas en 10 departamentos. Mediante técnicas clásicas de botánica se identificaron 6 especies de lupinos y se generó una colección de al menos 140 aislamientos bacterianos. De acuerdo al análisis de la secuencia del gen 16S rRNA todos los aislamientos obtenidos pertenecen al género *Bradyrhizobium*. Se realizaron BOX-PCR de los aislamientos y en base a los grupos observados, la localidad de colecta y la especie vegetal, 22 cepas representativas fueron seleccionadas para ensayos de especificidad de hospedero en invernáculo donde se incluyeron las 6 especies de Lupinos nativas y la comercial. Se analizó la filogenia de los genes nifH y nodC para los 22 aislamientos observándose agrupamientos según la biogeografía de sus hospederos.

Fontagro ID30 y Pedeciba Biología-Química

Módulo 2:
Integración de información sobre el microbioma en el manejo de sistemas de producción y en el mejoramiento genético.



Nodulación en Lotus híbridos (Foto R. Reyno)

O5: Back to the roots

Víctor J. Carrión

Departamento de Microbiología, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea 'La Mayora', Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Universidad de Málaga, Málaga, Spain.

Department of Microbial Ecology, Netherlands Institute of Ecology NIOO-KNAW, 6708 PB, Wageningen, The Netherlands.

Institute of Biology, Leiden University, Leiden, the Netherlands.7 Bioinformatics Group, Wageningen University, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen, Netherlands.

Plant domestication was pivotal achievement for human civilization and subsequent improvement of increased crop productivity and quality. However, domestication also caused a strong reduction in the genetic diversity of modern cultivars compared to their wild relatives. It is known that microbiomes play a pivotal role in plant growth and health, but the genetic factors involved in microbiome assembly remain largely elusive. Here, our newest results are presented, we studied the microbiome assembly in wild and domesticated crop plants, common bean and in a diverse hybrid population of tomato. For common bean, our analysis indicated that along the bean genotypic trajectory, going from wild to modern, there was a gradual decrease in relative abundance of Bacteroidetes, mainly Chitinophagaceae and Cytophagaceae, and an increase in relative abundance of Actinobacteria and Proteobacteria, in particular Nocardioideae and Rhizobiaceae, respectively. Collectively, these results establish a link between common bean domestication, specific root morphological traits and rhizobacterial community assembly. For tomato, we mapped the molecular features of the rhizosphere microbiome as quantitative traits of a diverse hybrid population of wild and domesticated tomato. Gene content analysis of prioritized tomato quantitative trait loci suggests a genetic basis for differential recruitment of various rhizobacterial lineages, including a *Streptomyces*-associated 6.31 Mbp region harboring tomato domestication sweeps and encoding, among others, the iron regulator FIT and the water channel aquaporin SITIP2.3. Within metagenome-assembled genomes of root-associated *Streptomyces* and *Cellvibrio*, we identify bacterial genes involved in metabolism of plant polysaccharides, iron, sulfur, trehalose, and vitamins, whose genetic variation associates with specific tomato QTLs. By integrating 'microbiomics' and quantitative plant genetics, we pinpoint putative plant and reciprocal rhizobacterial traits underlying microbiome assembly, thereby providing a first step towards plant-microbiome breeding programs.

O6: Mapeo asociativo de la fijación biológica de nitrógeno en germoplasma avanzado del programa de mejoramiento genético de soja de INIA

Ruiz González S¹, Rosas Caissiol J², Mattos N¹, Mortalena M¹, López V¹, Barlocco C.,
Beyhaut E¹

Bioinsumos, INIA Las Brujas, Uruguay.

Programa Arroz, INIA Treinta y Tres, Uruguay.

salvador.ru.gon@gmail.com ebeyhaut@inia.org.uy jrosas@inia.org.uy

La importancia que la soja ha adquirido en el Uruguay ha convertido a esta leguminosa en uno de los tres principales rubros de exportación. Debido a su alto contenido en proteína, la soja es el cultivo con la mayor demanda de nitrógeno, requerimiento nutricional que puede cubrir mayoritariamente, y bajo condiciones correctas de manejo, gracias a la fijación biológica de nitrógeno (FBN), mediada por rizobios específicos a través de una relación simbiótica. Históricamente, la investigación sobre FBN se ha centrado en la selección de cepas de rizobios élite, dedicando poca atención a la genética de la planta huésped. El mejoramiento genético de soja para FBN requiere del conocimiento de su variabilidad y control genético, los cuales son desconocidos en el germoplasma local. El objetivo de este trabajo es identificar marcadores moleculares mediante análisis de asociación (GWAS) para la selección asistida de cultivares de soja con mayor aptitud para FBN que pudieran acelerar la ganancia genética de este rasgo. Para ello se fenotiparon 190 líneas avanzadas del programa de mejoramiento genético de soja de INIA para características de FBN (peso seco parte aérea, número de nódulos, peso seco nódulos, número medio de nódulo y eficiencia simbiótica), en invernáculo bajo un diseño experimental por bloques completamente aleatorizados con cuatro repeticiones y condiciones controladas de luz, humedad y temperatura. Se estudió la asociación entre estas variables y 3610 polimorfismos de un solo nucleótido distribuidos por todo el genoma, detectándose 43 *quantitative trait loci* (QTL) asociados a alta eficiencia de FBN que explicaron entre un 20 y un 40% de la variabilidad fenotípica observada en esta población para las variables mencionadas. Este trabajo apunta a contribuir con el mejoramiento y la sustentabilidad económica y ambiental del cultivo.

Financiamiento:

Proyecto: Maximización de la fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja

Beca: INIA

Fuente financiamiento: INIA

O7: El microbioma endofítico de semilla al rescate de las razas criollas de maíz en Uruguay

Trasante T¹, Montañez A¹, Silva C¹, Azziz G², Vidal R³, Galván G³, Vaz P¹

¹ Laboratorio de Microbiología de Suelos, Facultad de Ciencias, Uruguay. ² Laboratorio de Microbiología, Facultad de Agronomía, Uruguay. ³ Laboratorio de Fitotecnia y recursos fitogenéticos, Facultad de Agronomía, Uruguay. *taniatrasante@gmail.com

En Uruguay se cultivan variedades criollas de maíz (*Zea mays*. L) que han sido conservadas *in situ* por agricultores familiares en sus establecimientos durante generaciones, siendo el registro más antiguo de cerca de 400 años. Estas variedades son conservadas *ex situ* por la Facultad de Agronomía y el INIA, fueron catalogadas en 10 razas fenotípicas e integran al día de hoy bancos de germoplasma. Actualmente se registra una pérdida biodiversidad asociada al avance territorial de cultivos híbridos comerciales que contaminan genéticamente estas variedades, perdiéndose la coevolución con el suelo y las comunidades microbianas. Los microorganismos endofíticos de semilla son particularmente relevantes para la conservación, ya que son pioneros colonizadores de la planta emergente, siendo algunos seleccionados y transferidos verticalmente a través de las generaciones del cultivo. Algunos inclusive poseen capacidades de promoción del crecimiento vegetal (PCV) tales como la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fósforo y el control de fitopatógenos, por lo que confieren características adaptativas y son factibles de constituir soluciones biotecnológicas nativas y accesibles, al servicio de la conservación de semillas criollas. Para explorarlo nos propusimos estudiar la diversidad bacteriana cultivable y no cultivable presente en semillas de 5 variedades criollas de maíz obtenidas tanto *in situ* como *ex situ*, comparándolas con una variedad comercial de polinización abierta “Blanco Cangüe” cuyo origen es una variedad criolla, y 5 cultivares híbridos comerciales importados (INASE). Los resultados de la fracción cultivable indican que la diversidad bacteriana es significativamente mayor en semillas criollas con respecto a sus pares híbridas comerciales, especialmente cuando nos focalizamos en grupos funcionales PCV. Algunas de las cepas aisladas a partir de variedades criollas tienen potencial para el desarrollo de bioinsumos y conforman una colección. Se presentarán resultados preliminares de ensayos de biología molecular que complementarán el análisis en etapas posteriores de este proyecto de Doctorado.

Financiamiento: Proyecto CSIC Iniciación a la investigación 2019, Beca de Doctorado ANII 2022.

O8: La salud del suelo se mantiene mediante la agricultura conservacionista en un sistema de cultivos de grano y pasturas

Victoria Cerecetto^{1,2*}, Doreen Babin², Kornelia Smalla², Carolina Leoni¹

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa de Producción y Sustentabilidad Ambiental, Estación Experimental INIA Las Brujas, Ruta 48 Km 10, 90200 Rincón del Colorado, Canelones, Uruguay. ² Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Julius Kühn Institute (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Alemania
vcerecetto@inia.org.uy

Una mejor comprensión de los microbiomas del suelo y plantas en los agroecosistemas tiene el potencial de mejorar la sostenibilidad agrícola. Hipotetizamos que la rotación cultivo-pastura mejora la producción agrícola manteniendo la salud del suelo, fomentando la diversidad microbiana y de microorganismos promotores de crecimiento vegetal. La salud del suelo del cultivo continuo (CC) y dos rotaciones cultivo-pastura (larga-LR, y corta-SR) del Experimento de Largo Plazo de Palo a Pique, INIA Treinta y Tres fueron comparadas en dos momentos de muestreo (primavera-avena y verano-sorgo/soja). La salud del suelo fue evaluada a través de diferentes propiedades fisicoquímicas y biológicas. La distribución de los agregados del suelo, la densidad del suelo y el rendimiento de los cultivos fue superior en SR/LR en comparación a CC. En primavera, las comunidades microbianas (Bacteria y Arquea) del suelo y la rizósfera se diferenciaron según las rotaciones, con un aumento de la abundancia relativa de *Bacillus*, *Xanthobacteraceae* en suelos SR/LR y de *Devosia* y *Microbacterium* en las rizósferas SR. A su vez, estos dos últimos géneros se correlacionaron positivamente con el contenido de N y el rendimiento de la avena. En verano el efecto de las rotaciones sobre las comunidades se mantuvo, y en las rizósferas de SR/LR se observó una tendencia hacia el aumento de *Pseudomonas* y *Bacillus*. La mayoría de los aislados se identificaron como *Pseudomonas* y *Bacillus* y compartían un alto porcentaje de identidad con los ASVs predominantes. Un screening *in vitro* de los aislados mostró que todos los *Bacillus* obtenidos de SR/LR y una *Pseudomonas* obtenida de SR poseen varias propiedades beneficiosas para las plantas. En resumen, nuestros resultados sugieren que las rotaciones cultivo-pastura tienen el potencial de mantener la salud del suelo y potenciar el rendimiento agrícola en comparación al cultivo continuo.

P6: Microbioma del suelo y cambios asociados a diferentes usos del campo natural

Giménez M^{1,2}, Piñeiro G³, Iraola G¹

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay.

²Laboratorio de Genómica Microbiana, IIBCE, Uruguay. ³Depto. Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Uruguay.

mgimenez@pasteur.edu.uy

Los sistemas ganaderos sobre campo natural son uno de los sistemas de producción más extendidos en nuestro país. Distintas opciones de intensificación de estos sistemas productivos han sido propuestas en vías de aumentar la producción por unidad de superficie utilizada. Sin embargo, es necesario entender qué implicancias pueden tener estos manejos en otros servicios ecosistémicos. Esto resulta clave para el diseño de estrategias de manejo sustentables en sistemas ganaderos a campo natural. Se seleccionaron diez sitios de muestreo. Seis de estos correspondientes a Experimentos a largo plazo con diferentes usos del suelo, junto con controles de campo natural. Otros cuatro sitios correspondientes a predios agrícolas comerciales con al menos 10 años de una rotación agrícola y cercano a un sitio de campo natural. En conjunto se cuenta con ensayos que abarcan los siguientes manejos de campo natural: fertilización nitrogenada, mejoramiento con leguminosas y fósforo, un ensayo de ofertas contrastantes de forraje, ensayos de pasturas y cuatro sitios de agricultura. Esto contabiliza un total de 107 muestras teniendo en cuenta repeticiones y bloques de cada ensayo. Para el análisis de estas comunidades microbianas se utilizará metagenómica dirigida, secuenciando el gen ARNr 16S para bacterias y la región intergénica ITS1 para hongos. Estos genes tienen valor taxonómico por lo cual se obtendrá la abundancia relativa de cada especie o género de bacterias y hongos presentes en las muestras estudiadas. Esto permitirá comparar diversidad en el microbioma de cada sitio, así como entender si existe un conjunto de especies común a todas las muestras de campo natural obtenidas. Por otro lado también se utilizará metagenómica *shotgun*, para buscar funciones vinculadas a la degradación de materia orgánica a partir de la comparación de los metagenomas y sus enzimas predichas, contra la base de datos de enzimas activas de carbohidratos (CAZYdb).

Financiamiento: ANII

P7: Exploración de la microbiota bacteriana cultivable de semillas de especies leñosas nativas ribereñas del Río Uruguay

Silva C¹, Vaz-Jauri P¹, Trasante T¹, Tió A¹, Lucas C², Morel M¹, Lucas Ch, Montañez A¹

¹Laboratorio de microbiología de Suelos, Universidad de la República, Uruguay

²Polo de Ecología Fluvial, Departamento del Agua, CENUR Litoral Norte

csilva@fcien.edu.uy

El interés en la conservación de las especies de plantas nativas está creciendo en todo el mundo, y las especies uruguayas en sus diversos ecosistemas aún son desconocidas. Nuestro objetivo fue explorar la microbiota endófito de semillas de seis especies de árboles ribereños, una de ellas, una especie invasora no nativa. Las semillas se esterilizaron superficialmente, se maceraron con mortero estéril y se sembraron en placas en diferentes medios: un medio rico, tres sin N y uno que sirvió como indicador de solubilización de P. Después del aislamiento de las colonias (diferentes morfologías) y el almacenamiento a -80 °C, se obtuvieron secuencias 16S de todos los aislamientos y se seleccionaron 50 para evaluar promoción del crecimiento vegetal. Se obtuvieron un total de 230 aislados bacterianos, pertenecientes a 28 géneros diferentes de 5 clases. El género más abundante fue *Pseudomonas* (35,7%), que se encontró en todas las especies vegetales. De las 94 cepas potencialmente diferentes, según las distancias Tamura-Nei de sus secuencias 16S, 73 (77,7%) se aislaron solo en uno de los cinco medios utilizados y solo 4 (0,04%) se obtuvieron de cuatro de ellos. El número de aislamientos de cada especie osciló entre 6 y 32, lo que es esperable de bacterias endófitas cultivables de semillas. Varios de los aislamientos probados mostraron un aumento significativo en el peso seco vegetal con respecto a los controles en los ensayos de promoción del crecimiento vegetal (LSD, $p < 0,05$). Este trabajo es una primera aproximación a la caracterización taxonómica y funcional del microbioma endófito de semillas de especies del bosque ribereño del Río Uruguay. Además, se creó una colección de aislamientos de nichos específicos, lo que abre una puerta a numerosas preguntas en áreas tan diversas como la ecología, la sanidad vegetal y la biotecnología.

Módulo 3:
**Nuevas estrategias para potenciar
el control biológico**



Plantas de arroz inoculadas con el patógeno *Nakatae oryzae* (Foto M. Olivera).

O9: Control biológico: integrando ecología, biotecnologías y *omics* para una nueva generación de controladores

Dr. Ing. Agr. Eduardo Abreo

Laboratorio de Bioproducción, Plataforma de Bioinsumos, INIA.

eabreo@inia.org.uy

La creciente demanda por productos agrícolas saludables, que sean obtenidos mediante prácticas agrícolas sustentables, ha creado una oportunidad para el desarrollo y la inclusión de controladores biológicos en el manejo integrado de los cultivos. El control biológico de enfermedades y plagas es visto como una herramienta muy útil para reducir la aplicación de productos de síntesis, asegurar la calidad sanitaria de los bienes producidos, reducir el nivel de residuos y el impacto global de la agricultura en el ambiente. Sin embargo, el desarrollo de bioinsumos que sean efectivos, en una formulación estable, puede ser lento y requerir de procesos de adopción también dilatados en el tiempo. Desde el inicio de una investigación para el desarrollo de un controlador biológico, es necesario reconocer la complejidad de la ecología de un patógeno o insecto a ser controlado en sus múltiples interacciones en un agroecosistema productivo, de forma de diseñar la mejor estrategia de investigación y control en cada caso. Además de ecología aplicada, en la actualidad es posible conocer como nunca antes -por el desarrollo de la genómica y otras *omics*- al controlador biológico, el patógeno o insecto, y la relación molecular entre ellos. La integración de todas estas herramientas ofrece la oportunidad para generar agentes microbianos de control biológico más efectivos que puedan ser formulados y aplicados en estrategias informadas por la ecología del patosistema.

O10: Estudio de inóculos definidos como controladores biológicos de *A. flavus* en silos de grano húmedo de sorgo

Gonda M¹, Garmendia G¹, Rufo C², Vero S¹

¹ Área Microbiología (DepBio), Facultad de Química, UdelaR, Uruguay.

² Laboratorio de Alimentos y Nutrición, Instituto Polo Tecnológico, Facultad de Química, UdelaR, Uruguay.

mgonda@fq.edu.uy

Los silos pueden presentar contaminación fúngica, lo cual es un potencial riesgo para la salud animal ya que los hongos contaminantes pueden ser productores de micotoxinas. Uno de los contaminantes más frecuente en silos de sorgo en Uruguay es *Aspergillus flavus*, especie conocida como productora de aflatoxinas. Una estrategia que se utiliza para inhibir el deterioro fúngico en los silos son los inoculantes microbianos. En este contexto se estudió al kefir de agua (KA) como inoculante de cuarta generación. El KA es una bebida producida por fermentación de soluciones azucaradas utilizando gránulos de KA, formados por bacterias ácido-lácticas, ácido-acéticas y levaduras embebidas en una matriz de polisacáridos. Los resultados del estudio mostraron que los microorganismos del KA controlan el crecimiento de *A. flavus* en los mini-silos de sorgo durante la fase aerobia inicial. La comunidad microbiana del KA se estudió por secuenciación masiva e integrantes de esta comunidad fueron aislados e identificados. Dichos microorganismos fueron evaluados en forma individual y en grupos buscando un bioinoculante definido con el cual se controlará el crecimiento de *A. flavus* en forma similar a la obtenida con la comunidad completa. Se realizaron mini-silos experimentales inoculados con diferentes combinaciones de aislamientos del KA y *A. flavus*. El crecimiento del hongo se determinó por qPCR. Los resultados mostraron que un inóculo mixto compuesto por dos bacterias ácido-lácticas, dos levaduras y una bacteria ácido-acética en presencia de compuestos solubles del sobrenadante del KA logró inhibir el crecimiento de *A. flavus*, de igual manera que el KA completo.

Financiamiento: Proyecto CSIC “Levaduras en estrategias de control biológico de hongos toxicogénicos en alimentos”, beca de Doctorado y de Finalización de Doctorado de la Comisión Académica de Posgrado.

O11: Conociendo al enemigo: Hidrocarburos epicuticulares de insectos plaga y su utilización para el biocontrol

Sessa L¹, Pedrini N², Altier N¹, Abreo E¹

¹ Laboratorio de Bioproducción, Plataforma de Bioinsumos, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. ² Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), CCT La Plata Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) – Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Argentina.

lsessa@inia.org.uy

La epicutícula de los insectos, compuesta principalmente por hidrocarburos, representa la primera barrera de defensa frente a la infección por hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*. En este trabajo se investigó la composición de los hidrocarburos epicuticulares (CHC) de la chinche de la soja, *Piezodorus guildinii*, y su uso para aumentar la virulencia de dos cepas de *B. bassiana* (ILB308-alta y ILB299-baja virulencia). Mediante GC-masa se obtuvieron los perfiles cromatográficos de CHC de insectos colectados en campos de soja tratados con insecticidas y en campos no tratados y se dilucidó la identidad y la cantidad relativa de cada uno de estos compuestos. Para evaluar el efecto de los CHC sobre la virulencia de *B. bassiana*, ambas cepas fueron cultivadas en medios mínimos (MM) con n-pentadecano (n-15) como única fuente de carbono, los conidios fueron colectados y usados para inocular los insectos por inmersión y la mortalidad se registró diariamente durante 12 días. La expresión de genes implicados en la viabilidad, osmolaridad y la adhesión de las esporas, así como la asimilación de hidrocarburos o el estrés oxidativo se evaluó mediante qRT-PCR. Se detectó un total de 72 CHC, incluyendo el n-C15 como CHC volátil predominante. Se encontraron diferencias en el patrón de CHC entre ninfas y adultos, así como dimorfismo sexual. También se encontró una cantidad mayor de CHC totales en insectos colectados en campos de soja tratados con insecticida, lo cual podría estar ligado a la generación de resistencia frente a insecticidas. La cepa ILB308 mostró un aumento de su virulencia hacia *P. guildinii*, así como una sobreexpresión temprana de la mayoría de los genes evaluados. La cepa ILB299 también mostró un aumento de su virulencia, pero la sobreexpresión de genes relevantes para la infección y el metabolismo de degradación de CHC fue baja y retrasada en el tiempo.

Financiamiento: Beca ANII, INIA, Beca CAP.

O12: ¿Podemos mejorar una cepa de *Beauveria bassiana* biocontroladora de la chinche de la soja *Piezodorus guildinii* combinando métodos de biología molecular y datos de secuenciación masiva?

Oberti H¹, Sessa L¹, Sanchez-Vallet A², Navarrete F³, Seidl M⁴, Pessio M⁵, Cibils X⁵, Abreo E¹

¹ Laboratorio de Bioproducción, Plataforma de Bioinsumos, INIA Las Brujas, Canelones, Uruguay ² Laboratorio de Mecanismos Moleculares de Virulencia en Hongos Patógenos de Plantas, CBGP, Madrid, España ³ Centro de Investigación en Genómica Agrícola, Barcelona, España ⁴ Theoretical Biology and Bioinformatics, Department of Biology, Faculty of Science, Utrecht, Netherlands ⁵ Laboratorio de Entomología, INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay

hoberti@inia.org.uy

La chinche de la soja *Piezodorus guildinii* es un insecto fitófago que produce grandes pérdidas en la producción de soja y requiere la aplicación de insecticidas químicos. Además, presenta grados de resistencia a éstos y a enemigos naturales. Entre estos últimos, aislamientos de la especie *Beauveria bassiana* ILB308, ILB205 e ILB299 han mostrado virulencia decreciente hacia adultos de *P. guildinii* en ensayos *in vitro*. Es necesaria una comprensión integral de los genes involucrados en los mecanismos de acción de biocontrol para iniciar un proceso de mejoramiento de estas cepas. Para ello, se secuenciaron los genomas mediante Illumina paired-end 150pb y fueron ensamblados mediante SPAdes. Los genomas ensamblados de estas tres cepas (38-39Mb) se anotaron estructural y funcionalmente. Inicialmente, se realizó un ajuste de la transformación mediante *Agrobacterium tumefaciens* en la cepa ILB308 -de alta virulencia hacia *P. guildinii*- y el *knock out* (KO) dirigido en esta cepa. Este KO se realizó en un gen que codifica una enzima activa en carbohidratos identificada *in silico* como posible factor de virulencia usando herramientas como EffectorP y la base de datos de Interacciones Hospedero-Patógeno (PHI). También se obtuvieron mutantes mediante inserción aleatoria de T-DNAs para realizar un *screening* mediante genética reversa de posibles genes de interés. En paralelo, se implementó un ensayo de RNAseq dual (hongo-insecto) a los 4 días de iniciada la infección, y en diferentes condiciones de crecimiento axenico con el fin de identificar la expresión de genes particulares de cada cepa involucrados en la infección cuya función pueda ser verificada mediante KO y sobreexpresión. Finalmente, los genes identificados podrán ser usados para obtener una cepa mejorada mediante distintas técnicas. De esta forma, buscamos generar marcadores moleculares que, al igual que en especies vegetales, ayuden a dirigir cruzamientos de cepas con características de interés. De igual forma, estos pueden ser utilizados para realizar transformación génica en cepas que faciliten la obtención de cepas con mayor virulencia hacia un insecto de difícil control.

Financiamiento: INIA SA_47, ANII_FMV_1_2021_1_169591, RYC2018-025530-I MCIN/AEI /10.13039/501100011033, EI FS

P8: Control biológico de *Gonipterus platensis*

Tiscornia Susana¹, Abreo Eduardo², Martínez Gonzalo³, Lupo Sandra¹

¹ Sección Micología, Facultad de Ciencias-Universidad de la República. Iguá 4225. Uruguay

² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Las Brujas. Uruguay

³ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Tacuarembó. Uruguay
stiscornia@fcien.edu.uy

Gonipterus platensis es un insecto plaga introducido que afecta a las plantaciones de Eucaliptus y constituye un importante problema, dado que las larvas y adultos se alimentan de las hojas. El uso de hongos entomopatógenos capaces de colonizar y matar a estos insectos constituye una alternativa a la aplicación de insecticidas para su manejo. Se evaluó la aplicación de dos productos formulados con cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (ILB308 e ILB205) para el control de adultos de *G. platensis*. Los tratamientos consistieron en la aplicación por inmersión de los insectos en una suspensión de 1×10^7 esporas/ml de cada producto formulado. Se realizaron tres controles: uno solo con el soporte sin las esporas de cada producto formulado, otro control al cual solamente se aplicó agua tween y uno sin aplicación. Los insectos se colocaron en jaulas con hojas de *Eucalyptus* spp. como alimento. Se registró diariamente la mortalidad de los insectos y cada insecto muerto se retiró de la jaula y se transfirió a una cámara húmeda para evaluar la emergencia del hongo entomopatógeno. Se realizaron 3 réplicas de cada tratamiento. Se calculó la mortalidad acumulada y la supervivencia en los diferentes tratamientos. Ambas formulaciones produjeron la mortalidad de los individuos siendo ésta de 19 y de 18 insectos a los 13 días de inoculados para los productos formulados con las cepas de *B. bassiana* ILB308 e ILB205 respectivamente. En los controles la mortalidad acumulada varió entre 1 y 6. Estos resultados demuestran la efectividad de ambos productos en condiciones de laboratorio y abren un escenario promisorio para su aplicación en campo.

P9: *Bacillus* sp. UY6A, una cepa aislada de nódulo de *Lupinus multiflorus* con características promisorias como agente de control biológico

Costa A¹, Corallo B², Amarelle A¹, Tiscornia S², Stewart S³, Pan D², Fabiano E¹

¹Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura. Av. Italia 3318. Montevideo 11600, Uruguay. ²Sección Micología, Facultad de Ciencias-Universidad de la República. Iguá 4225. Montevideo 11400, Uruguay. ³Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa Cultivos de Secano. Estación Experimental La Estanzuela. Ruta 50 km 11, 70000, Colonia, Uruguay
andrescosta1991@gmail.com

Las enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos son responsables de ocasionar pérdidas devastadoras en cultivos agrícolas. Para disminuir el uso excesivo de pesticidas químicos, una de las estrategias empleadas consiste en el uso de agentes microbianos de control biológico. La microbiota presente en suelos saludables o asociada a las plantas contiene naturalmente microorganismos capaces de proteger a la planta de enfermedades y por lo tanto son ideales para la prospección de microorganismos con capacidad controladora. A partir de un nódulo radicular de una planta saludable de *Lupinus multiflorus* colectada en un pastizal psamófilo de la localidad de La Pedrera en el departamento de Rocha, Uruguay, aislamos la cepa UY6A. El análisis de la secuencia del gen 16SrRNA mostró que está relacionada estrechamente con las cepas tipo de *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus nakamurai* y *Bacillus velezensis*. Varias cepas pertenecientes a estas especies bacterianas se caracterizan por tener capacidad de antagonizar diversos fitopatógenos y por lo tanto nos propusimos evaluar su potencial antifúngico. Los resultados obtenidos muestran que la cepa UY6A produce compuestos difusibles y compuestos volátiles capaces de inhibir el crecimiento de diversos hongos fitopatógenos. Utilizando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas se caracterizó el volatiloma de la cepa UY6A, identificando compuestos previamente reportados con actividad antifúngica (ácido 3-metilbutanoico, 3-metil-2-pentanona, 2,3-butanodiol y 3-hidroxiбутanona), actividad promotora del crecimiento vegetal y actividad inductora de la resistencia sistémica de la planta (2,3-butanodiol y 3-hidroxiбутanona). Los resultados aquí presentados muestran que esta novedosa cepa de *Bacillus* sp. posee gran actividad antifúngica frente a patógenos y puede ser una potencial y valiosa cepa para ser considerada en el desarrollo de biofungicidas.

Financiación: FONTAGRO ID30, Pedeciba Química-Biología

P10: Biopreparados para la producción agroecológica

Rodríguez N¹, Lassevich D¹, Ruiz J¹, Carro G², Platero R, Bajsa N¹

¹Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, IIBCE, Uruguay.

²Espíritu del Bosque

nbajsa@gmail.com

El uso de bioinsumos de elaboración predial o en pequeña escala es una práctica en aumento, principalmente entre productores agroecológicos. Los biopreparados se obtienen a partir de residuos del mismo predio o de fácil adquisición y aportan materia orgánica, nutrientes y microorganismos. Durante su fabricación intervienen procesos microbianos aerobios (en bokashi) o anaerobios (en supermagro, microorganismos eficientes), en preparaciones sólidas o líquidas. Existe amplia información de la eficacia de los biopreparados para mejorar la salud del suelo, la nutrición y sanidad de los cultivos, pero la composición microbiana de los mismos ha sido poco estudiada.

Para cuantificar las poblaciones de ciertos grupos microbianos en los biopreparados se utilizó la técnica de recuento en placa en medios semiselectivos y la estructura de las comunidades de bacterias y hongos se describieron por secuenciación masiva del gen del ARNr 16S o la región intergénica ITS. El bokashi presentó alta proporción de actinobacterias, y menor de bacterias lácticas, hongos filamentosos y levaduras, y una alta diversidad tanto de bacterias como de hongos. El preparado de microorganismos eficientes nativos (MEN) contenía mayoritariamente bacterias lácticas y levaduras, con una alta dominancia de *Lactobacillus* spp. y *Sacharomyces* spp. El supermagro contenía alta población de bacterias lácticas, menor de actinobacterias y levaduras y aún menor de hongos filamentosos, salvo la versión con sales de cobre en la cual no se detectaron microorganismos cultivables. Los diferentes lotes analizados presentaron proporciones similares de los distintos microorganismos analizados.

Se realizó un ensayo agregando biopreparados al suelo con un cultivo de lechuga. El bokashi aumentó la biomasa aérea y radicular, mientras que los MEN aumentaron el crecimiento de las raíces. Además, el bokashi aumentó la población de microorganismos del suelo, y la respiración microbiana. Los MEN aumentaron la respiración y presentaron actividad antagonista *in vitro* frente a hongos patógenos.

Financiamiento: DGDR-MGAP, ANII

P11: Desarrollo del biofungicida CREBIO 4 con aislamiento nativo de *Trichoderma asperellum* para el control de fitopatógenos del tomate (*Solanum lycopersicum*).

Rodríguez dos Santos Alda¹

¹Batovi Instituto Orgánico (BIO) Uruguay.
aldardos@gmail.com

El desarrollo de bioinsumos en base a organismos nativos tiene múltiples beneficios desde el punto de vista de la capacidad de adaptación al medio de estos organismos luego de las aplicaciones, el aumentando de la probabilidad de establecerse en el medio y adaptarse a las condiciones ambientales; pero sobre todo de traccionar la regeneración de los agroecosistemas. Aún existen escasos bioinsumos de estas características y su desarrollo implica un proceso que involucra diversos actores del sector productivo e institucional. El desarrollo de CREBIO 4 recorre ese camino desde las primeras inquietudes de productores que por diversos motivos solicitan herramientas biológicas para incluir en sus planes sanitarios, la prospección de cepas a nivel de suelo, las evaluaciones de antagonismos y selección de cepas a nivel de laboratorio, las evaluaciones de eficiencia técnica a campo, el desarrollo de una formulación que conserve viable las esporas. Las evaluaciones de antagonismo en laboratorio se realizaron sobre fusarium (*Fusarium oxysporum*), botrytis (*Botrytis cinérea*), sclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) y cladosporium (*Cladosporium fulvum*). La evaluación de eficiencia técnica se realizó sobre Botrytis en tomate (*Solanum lycopersicon*) de invernadero. Posteriormente se realizó la identificación molecular mediante la coordinación con INIA, la generación del dossier técnico requeridos por la autoridad competente de registro (DGSA/MGAP), los análisis toxicológicos del producto, etapa que contó con el apoyo de DIGERGRA/MGAP como parte de las acciones del FPTA 344, así como las validaciones que se realizaron en distintos puntos de producción hortícola del país. Como resultado luego de 5 años de proceso se cuenta con un nuevo bioinsumo que enriquece la caja de herramientas sanitarias, que cumple los requisitos de calidad y eficiencia técnica.

Financiamiento: fondos de BIO Uruguay y apoyo de DIGEGRA/MGAP

P12: Desarrollo del bioinsecticida de trips CREBIO 3 con aislamiento nativo de *Metarhizium anisoplaea* para el control de trips (*Frankliniella occidentalis*) en lechuga (*Lactuca sativa* L).

Rodríguez dos Santos Alda¹

¹ Batovi Instituto Orgánico (BIO) Uruguay.
aldardos@gmail.com

El desarrollo de bioinsumos en base a organismos nativos tiene múltiples beneficios desde el punto de vista de la capacidad de adaptación al medio de estos organismos luego de las aplicaciones, el aumentando de la probabilidad de establecerse en el medio y adaptarse a las condiciones ambientales; pero sobre todo de traccionar la regeneración de los agroecosistemas. Aún existen escasos bioinsumos de estas características y su desarrollo implica un proceso que involucra diversos actores del sector productivo e institucional. El desarrollo de CREBIO 3 recorre ese camino desde las primeras inquietudes de productores que por diversos motivos solicitan herramientas biológicas para incluir en sus planes sanitarios, la prospección de cepas a nivel de suelo, las evaluaciones de antagonismos y selección de cepas a nivel de laboratorio, las evaluaciones de eficiencia técnica a campo, el desarrollo de una formulación que conserve viable las esporas. Las evaluaciones de eficiencia técnica se realizaron sobre trips (*Frankliniella occidentalis*) en lechuga (*Lactuca sativa* L). Posteriormente se realizó la identificación molecular mediante la coordinación con INIA, la generación del dossier técnico requeridos por la autoridad competente de registro (DGSA/MGAP), los análisis toxicológicos del producto, etapa que contó con el apoyo de DIGERGRA/MGAP como parte de las acciones del FPTA 344, así como las validaciones que se realizaron en distintos puntos de producción hortícola del país. Como resultado luego de 4 años de proceso se cuenta con un nuevo bioinsumo que enriquece la caja de herramientas sanitarias, que cumple los requisitos de calidad y eficiencia técnica.

Financiamiento: fondos de BIO Uruguay y apoyo de DIGERGRA/MGAP

eP13 Efecto nematocida de bacterias endófitas sobre *Meloidogyne* sp (Nematodo del nudo)

Varas N, Ogata K, Ormeño E, Zuñiga D

Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología, Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú.

dzuniga@lamolina.edu.pe

Perú posee el 14° puesto dentro de los países más biodiversos del mundo y condiciones agroecológicas óptimas para cultivar una gran variedad de especies vegetales. Por otro lado, una agricultura intensiva y el empleo excesivo de pesticidas provocan un desbalance ecológico, favoreciendo el desarrollo de múltiples plagas y enfermedades, destacando entre ellos los nematodos fitopatógenos, capaces de provocar pérdidas económicas importantes.

En la presente investigación, se aislaron bacterias endófitas de raíces de dos cultivos de vid y pprika y se identificaron por la técnica de MALDI-TOF. Entre ellas, se seleccionaron las cepas: *B. subtilis* P1(11), *B. sonorensis* P1(12), *R. radiobacter* VSP7(4), VSP2, VSP9, VSP8, principalmente por su caracterización fisiológica y actividad nemattoxica sobre huevos (Prueba de inhibición de eclosión) y juveniles 2 (J2) de *Meloidogyne* sp. Las bacterias cultivadas en medio liquido se enfrentaron diluidas al 0.1% de concentración en volumen, simulando una condición de aplicación en campo. Las cepas *R. radiobacter* VSP8, *B. subtilis* P1(11), *B. sonorensis* P1(12) y *R. radiobacter* VSP7(4) tuvieron un efecto significativo en la mortandad de J2 de *Meloidogyne* sp. con 84%, 40%, 39% y 17% de efectividad, respectivamente. Por otro lado, las cepas, *R. radiobacter* VSP7(4), VSP9, VSP2, *B. sonorensis* P1(12) y *B. subtilis* P1(11), obtuvieron 89%, 62%, 55%, 14% y 3% respectivamente. Sin embargo, la cepa control *Bacillus thuringiensis* FV1D002, presentó 96% de inhibición de eclosión de huevos y 0% de efectividad en la mortandad de J2 de *Meloidogyne* sp. Se determinó finalmente que algunas cepas son efectivas sobre la mortandad de J2, mientras que otras, sobre la eclosión de huevos. Los resultados de este estudio hacen notar la especificidad del mecanismo de acción de las bacterias endófitas, con potencial de acción sobre los dos estadios de *Meloidogyne* sp., concluyendo que la mejor estrategia de control estará dada por la aplicación de un consorcio de dos a tres bacterias endófitas.

Financiamiento: Proyecto N 177-2015-FONDECYT-BM

Módulo 4: Avances en tecnologías de formulación y aplicación



Evaluación de granulado de conidios de *Metarhizium* en trigo (Foto F. Rivas).

O13: Sistemas de entrega para bioinsumos: Inmovilización en cápsulas de hidrogel y recubrimiento de semillas

Dr. Fredy Mauricio Cruz Barrera

AGROSAVIA, Colombia

fcruz@agrosavia.co

Los microorganismos beneficiosos para las plantas (MBP) como las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas, los hongos micorrícicos y otros hongos (por ejemplo, *Trichoderma* spp.), minimizan los insumos de agroquímicos, mejoran la tolerancia al estrés biótico-abiótico y aumentan la nutrición de las plantas. La introducción de MBP en los sistemas de producción es una excelente estrategia para garantizar el rendimiento de los cultivos. Dentro de estas estrategias, el recubrimiento de semillas con MBP y la encapsulación en matrices poliméricas jugarán un papel destacado. Estas nuevas técnicas buscan reducir la cantidad de principio activo requerida, aumentar la estabilidad y la vida útil de los microorganismos en la formulación, disminuir las dosis de aplicación en campo y garantizar la liberación sostenida y gradual del principio activo. AGROSAVIA ha orientado estudios para obtener bioproductos con estas características por medio del escalamiento de procesos de formulación que han mostrado potencial a nivel de laboratorio.

El recubrimiento de semillas es una técnica para cubrir las semillas con agentes externos para mejorar su desempeño, manejo y establecimiento de la planta. Aquí, se presenta una formulación de recubrimiento de semillas que contiene *T. koningiopsis* Th003. Por otro lado, la encapsulación o inmovilización dentro de hidrogeles es una técnica de atrapamiento de microorganismos en materiales poliméricos que puede ofrecer protección contra el estrés ambiental y mejorar la vida útil en almacenamiento. En general, en los dos estudios de caso desarrollados en AGROSAVIA, el objetivo fue el de evaluar la eficacia de prototipos de recubrimiento de semilla de arroz y de prototipos encapsulados poliméricos conteniendo conidios de *T. koningiopsis* Th003 sobre: resistencia al secado, liberación sostenida de conidios, promoción de crecimiento en plantas de arroz, antagonismo contra la enfermedad añublo de la vaina del arroz (*Rhizoctonia solani*) y la estabilidad en almacenamiento entre otros. Los resultados discutidos en la presentación fortalecen la incorporación de estas alternativas de formulación en aplicaciones como el biocontrol. Se enfatiza que los dos sistemas de entrega desarrollados son transferibles a otros MBP y sistemas productivos.

O14: Formulación en polvo de una cepa de *Trichoderma asperellum* pre-seleccionada por la capacidad de promoción del crecimiento vegetal y biocontrol

Olivera M¹, Lupo S², Martinez S³, Pereyra S⁴, Abreo E¹

¹Laboratorio de Bioproducción, Plataforma de Bioinsumos, INIA Las Brujas ²Sección Micología, Facultad de Ciencias, UdelaR ³Laboratorio de Patología Vegetal, INIA Treinta y Tres

⁴ Protección Vegetal, INIA La Estanzuela.

eabreo@inia.org.uy

La cepa de *Trichoderma asperellum* ILB397 promueve el crecimiento de trigo y arroz y ha demostrado control biológico *in vitro* frente a patógenos de estas dos especies. Su capacidad de esporular en granos de arroz y la compatibilidad con quitosano, un compuesto natural derivado de la quitina con acción antimicrobiana y encapsulante, determinaron su selección para la producción de un formulado seco. Para ello, se realizó el cultivo de la cepa ILB397 en arroz y se recolectaron los conidios con agua luego de 12 días de crecimiento. Una solución de esporas suplementada con quitosano al 1,5 % como polímero protector y maltodextrina al 10% como material de soporte, se secó en *spray dryer* Bucher. Las condiciones de trabajo seleccionadas fueron temperatura de ingreso de 70° C, bomba 12%, 100% aspiración y flujo de aire 35 mm. Los formulados presentaron concentraciones de 1×10^9 esporas/g y viabilidad superior al 70%. El formulado se envasó al vacío y se almacenó a 4 °C y 20 °C para su evaluación. La capacidad de promoción de crecimiento vegetal del formulado se analizó en invernáculo, mediante inoculación de semillas de arroz cultivar INIA Tacuarí con una suspensión de formulado rehidratado de concentración 3×10^8 esporas/mL y en semillas de trigo cultivar Génesis 4.33 a concentración de 3×10^7 esporas/mL (10 réplicas y 2 repeticiones independientes). Las plantas de arroz se cosecharon a los 60 días, se secaron y se pesó la parte aérea. El formulado produjo un aumento del peso seco en plantas de arroz y un efecto *priming* en la germinación de semillas de trigo. Finalmente, se realizaron ensayos sobre semillas de trigo infectadas con *Fusarium graminearum* con el objetivo de verificar la capacidad de control biológico, observándose un aumento del 15% en la germinación de semillas inoculadas con el formulado.

O15: Selección y caracterización de aislamientos de *Metarhizium* spp. compatible con *Bradyrhizobium elkanii*, para el desarrollo de un bioinsumo que mejore la sanidad del cultivo de soja

Iglesias I¹, Beyhaut E², Dini B¹, Rivas F¹

¹ Laboratorio de Bioproducción, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria - Las Brujas, Uruguay.

² Laboratorio de Microbiología de Suelos, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria - Las Brujas, Uruguay.

iiglesias@inia.org.uy

A nivel mundial, es cada vez más frecuente la utilización de hongos entomopatógenos del género *Metarhizium* spp. como biocontroladores de plagas. Estos hongos presentan la capacidad de colonizar la rizósfera y asociarse a la raíz promoviendo el sistema de defensa de las plantas, y de controlar enfermedades de origen fúngico. Las enfermedades de implantación ocasionadas por hongos fitopatógenos ocasionan hasta el 10% de pérdidas de rendimiento en el cultivo de soja. La práctica habitual para reducir este impacto negativo es la aplicación de fungicidas químicos sobre la semilla. Sin embargo, estos son nocivos para el medio ambiente y afectan la sobrevivencia de las cepas comerciales de rizobios, *Bradyrhizobium elkanii* U1301 y U1302, con que se inocula el cultivo de soja en Uruguay. El objetivo de este trabajo es contribuir al mejoramiento sanitario del cultivo de soja por medio del desarrollo de un bioinsumo a base de *Metarhizium* sp. compatible con *B. elkanii* U1301 y U1302. Para ello se evaluó la compatibilidad de *Metarhizium* spp. con las cepas comerciales de *B. elkanii*, la capacidad de inhibición *in vitro* de hongos fitopatógenos y de reducir la incidencia de enfermedades de implantación *in planta*. También se determinó la capacidad de *Metarhizium* de colonizar la rizósfera y raíces de soja en forma endofítica. Los resultados obtenidos en placa permitieron diferenciar aislamientos de *Metarhizium* compatibles y no compatibles con las cepas comerciales de rizobios. Sin embargo, entre ambos grupos de hongos, no se observaron diferencias *in planta* en el peso seco de las plantas ni en el número y masa de los nódulos. Se determinó que *Metarhizium* es un hábil colonizador de la rizósfera de la soja. Finalmente, algunos aislamientos redujeron el crecimiento de los fitopatógenos evaluados *in vitro*, destacándose los aislamientos ILB167 e ILB440, correspondientes a la especie *M. robertsii*.

Financiamiento: INIA SA47, beca INIA de Maestría.

O16: Desarrollo de *films* a partir de polímeros lignocelulósicos para el encapsulamiento de bioinsumos de uso agrícola

Guibaud A^{1,2}, Beyhaut E¹, Lopez V¹, Mortalena M¹, Dini B¹, Cabrera MN²,
Clavijo L ², Rivas F¹

¹ Bioinsumos, INIA-Las Brujas, Uruguay

² Ingeniería de Procesos Forestales, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, Uruguay

sguibaud@fing.edu.uy frivas@inia.org.uy

El cultivo de soja en Uruguay es uno de los principales cultivos del país, sin embargo, su rendimiento se ve afectado fuertemente por la presencia de plagas y enfermedades. Una forma de mitigar estos efectos adversos es a través de la utilización de bioinsumos microbianos aplicados en recubrimientos de semillas. Los rizobios a partir de la fijación biológica de nitrógeno cumplen una función nutricional fundamental en los cultivos de leguminosas, pero poseen una sobrevivencia limitada una vez aplicados a las semillas. Por su parte, los hongos entomopatógenos del género *Metarhizium* son capaces de mitigar efectos adversos provocados por plagas y enfermedades. Se propone el desarrollo de un recubrimiento que permita la aplicación y mantenimiento de la viabilidad de los microorganismos, de forma que actúen como biofertilizante y biocontrolador. Se probaron distintas composiciones del polímero para el recubrimiento en base a la capacidad de adhesión a las semillas, resistencia mecánica y porosidad del material obtenido. La estructura de los polímeros preparados y la localización de los microorganismos en el recubrimiento se analizó por microscopía electrónica de barrido. El efecto del biopolímero sobre la semilla de soja, se realizó por ensayos de germinación. El desempeño del método de incorporación de los microorganismos al polímero, así como su sobrevivencia en el tiempo se evaluó mediante ensayos de viabilidad en distintas condiciones de almacenamiento. Los resultados obtenidos permitieron determinar que el biopolímero no afecta la capacidad de germinación de las semillas y les confiere protección a hongos entomopatógenos.

Financiamiento: Beca de Maestría, INIA.

P14: Síntesis de nanopartículas biogénicas a partir de *Trichoderma* spp. y su aplicación en el control de fitopatógenos

Sanguineto P¹, Abreo E², Alborés S¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Área de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, UdelaR, Uruguay. ²Laboratorio de Bioproducción, Plataforma de Bioinsumos, INIA Las Brujas, Uruguay.

paulasd@fq.edu.uy

El estudio y desarrollo de nanopartículas metálicas es de gran interés debido a la amplia variedad de aplicaciones que presentan, que se fundamentan por sus propiedades físico-químicas (diferentes a partículas de misma composición pero mayor tamaño). Particularmente, resulta promisorio su uso en el área agrícola. Trabajos recientes demuestran su potencial aplicación en el control de fitopatógenos y la promoción del crecimiento vegetal. La síntesis de nanopartículas por métodos biológicos es ventajosa por su menor costo y por condiciones de reacción de menor impacto ambiental que otras metodologías clásicas. En el presente trabajo se evaluó la biosíntesis extracelular de nanopartículas de plata (AgNPs) y cobre (CuNPs) por cepas del hongo *Trichoderma* aisladas de cultivos de Uruguay. Las síntesis fueron monitoreadas en el tiempo mediante espectros de absorción con la aparición de la banda correspondiente a la Resonancia de Plasmón de Superficie de las nanopartículas. Posteriormente fueron purificadas y caracterizadas por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y de Trasmisión de Alta Resolución (HR-TEM). Se evaluó su actividad antifúngica in vitro frente a *Rhizoctonia oryzae sativa*, *Sclerotium oryzae* y *Pyricularia oryzae* (fitopatógenos de arroz) y *Fusarium graminearum* (fitopatógeno de trigo). Los resultados obtenidos indicaron que todas las cepas evaluadas presentaron capacidad de sintetizar AgNPs, y las que mostraron mayor rendimiento fueron utilizadas para síntesis de CuNPs. Posteriormente, se estudió el efecto del tratamiento de semillas de trigo y arroz con las nanopartículas, evaluando la germinación de semillas en placa y emergencia de plantas en macetas. En general, en el ensayo en placa se observó que las AgNPs inhibieron el crecimiento de los microorganismos presentes en la semilla, favoreciendo la germinación. Asimismo, la emergencia de plantas a partir de semillas tratadas con AgNPs fue significativamente mayor que en semillas sin tratar, demostrando su promisoriosa aplicación en trigo.

Financiamiento: Proyecto INNOVAGRO ANII FSA_1_2018_1_152546, PEDECIBA QUÍMICA, Beca ANII, Beca CAP, Posgrado en Biotecnología-UDELAR

Módulo 5:

Desarrollos y perspectivas de empresas productoras y usuarias de bioinsumos



FPTA 344: Visita a predio de productores (Foto C. Fasiolo).

O17: Introducción de agentes de control biológico en el manejo integrado de plagas en horticultura

Adriana Vieta¹, Cecilia Orihuela¹, Carolina Fasiolo², Leticia Bao³, Guillermo Galvan³, Luján Banchemo¹, Analía Iurato¹, Alicia Godín¹, Patricia Primo¹, Sandra Waterston¹, Fernando Martínez¹, Virginia Viana¹

¹Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección General de la Granja. ²Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. ³Universidad de la República. Facultad de Agronomía.

avieta@mgap.gub.uy

El proyecto del Fondo de Promoción de Tecnologías Agropecuarias FPTA 344: “Introducción de agentes de control biológico y nuevas técnicas en el manejo integrado en horticultura”, ejecutado en el período 2017-2021, tuvo como objetivo alcanzar una transformación en el manejo integrado de plagas y enfermedades en la horticultura de la región sur, a través de la incorporación de agentes de control biológico y otras herramientas alternativas al control químico. La propuesta comprendió los principales cultivos en sistemas protegidos (tomate y morrón), y algunos cultivos a cielo abierto como cebolla y maíz dulce. Se promovió la multiplicación nacional de agentes de control biológico y su registro, integrándose a otros comercialmente disponibles. De esta forma se consolidaron herramientas que contribuyen a la sostenibilidad ambiental, económica y social de la producción de alimentos. Se promovieron herramientas de control biológico, semioquímicos, y herramientas de información para mejorar la toma de decisiones en los sistemas de producción. Se conformó un grupo articulador interinstitucional (DIGEGRA-MGAP, INIA y Facultad de Agronomía - UdelaR) responsable de llevar adelante las acciones del proyecto, y apoyo a los productores y técnicos en capacitaciones, charlas y jornadas de intercambio. En territorio se contó con una base de organizaciones de productores (principalmente vinculadas al sistema de fomento rural, CNFR) y las agencias territoriales de DIGEGRA-MGAP. Durante los cuatro años de proyecto, el número de productores involucrados fue creciente, llegando a más de 100 en el último año con la incorporación de productores de la región hortícola litoral norte (Salto y Bella Unión). El equipo técnico del proyecto realizó capacitaciones y cursos a diferentes actores dentro de la propuesta, primero a los laboratorios multiplicadores de bioinsumos en sus diferentes etapas, luego a los monitores para la identificación de plagas y enfermedades en los cultivos y cuantificar su incidencia. Al finalizar su periodo de ejecución el proyecto logró que los productores participantes redujeran la utilización de insecticidas de origen químico de amplio espectro, y la disminución en el número total de aplicaciones de fitosanitarios de síntesis química. Se avanzó en el conocimiento y experiencia sobre la utilización de agentes de control biológico y otras herramientas alternativas al control químico, aun cuando la implementación de la experiencia en el conjunto de los predios fue diversa.

O18: Experiencia de una empresa nacional de biotecnología aplicada a la agricultura

Krismanich G¹, Diana R²

¹ Dirección, Khyma soluciones biológicas, gKrismanich@khyma.com.uy.

² Investigación y desarrollo, Khyma soluciones biológicas rdiana@khyma.com.uy

La problemática que presenta el uso constante y excesivo de agroquímicos en la producción agropecuaria trae aparejados impactos negativos tanto para el medio ambiente como para la salud humana. El uso incorrecto a su vez, ha generado que las plagas sean más resistentes y se requieran dosis de aplicación cada vez mayores. La adopción de herramientas de control biológico para el manejo integrado de plagas es una alternativa tecnológica que representa una transición hacia un nuevo paradigma, en donde el manejo tiende a ser integrado, sostenible y más amigable con el ambiente. Esta tendencia no es acompañada aún por una oferta consolidada de productos, ni la suficiente cantidad de especialistas formados en la materia, lo que compone una de las barreras más importantes para migrar hacia una producción más sostenible. Un reto importante para los investigadores y la industria en el área de bioproductos es el desarrollo de nuevos agentes de control biológico y productos formulados de calidad, que estén disponibles en el mercado. En 2016 nace Khyma, buscando crear una empresa capaz de desarrollar y formular productos basados en agentes de control biológico. En el presente trabajo se desglosan los puntos más relevantes en el proceso de desarrollo de un controlador biológico y los desafíos que enfrenta una empresa uruguaya de biotecnología aplicada a la agricultura. Se abordará el proceso transcurrido desde el aislamiento de una cepa, hasta el registro ante la autoridad competente, de un bioformulado en base a *Trichoderma asperellum*. Se enfatizará en el trabajo realizado con el apoyo de distintas instituciones, como INIA Las Brujas, MGAP-DIGEGRA, MIEM, ANII y Facultad de Ciencias. Por último, se presentarán las distintas líneas de investigación que se están llevando a cabo, específicamente en la generación de formulaciones y mejoramiento de productos.

O19: Co-innovación para el escalamiento del uso del biogarrapaticida CREBIO 7 como herramienta de manejo de garrapatas del ganado *Rhipicephalus microplus* en sistemas ganaderos en transición agroecológica.

Rodríguez dos Santos Alda¹, Chia Eduardo², Rossi Virginia³

¹ Batovi Instituto Orgánico (BIO) Uruguay. ² INRAE Montpellier Francia

³ Universidad de la República, Facultad de Agronomía Paysandú, Uruguay

biouruguay@yahoo.com

Agroecología como la entiende y viene desarrollando BIO Uruguay propone movilizar los conocimientos científicos y prácticos, tradicionales, locales de los productores para co-concebir nuevos sistemas de producción. A partir de la experiencia pionera de BIO Uruguay y COPLT de innovación para la restauración del control natural de la garrapata bovina *Rhipicephalus microplus* se desarrolla esta nueva etapa de escalamiento. El objetivo de este artículo es reflexionar sobre el camino de transición agroecológica que comienzan a transitar dos zonas ganaderas del país. Las experiencias que se presentan se desarrollaron en el marco de un acuerdo interinstitucional entre febrero 2021 y junio 2022, con ganaderos de dos organizaciones rurales de productores del norte de Uruguay, la Liga de Trabajo de Guichón y la Liga de Trabajo de Fraile Muerto. El trabajo da cuenta de los principales resultados alcanzados en la eficiencia de control de la garrapatas del ganado *R. microplus* con el biogarrapaticida CREBIO 7 en base a hongos nativos, sustituyendo a los acaricidas de síntesis química en forma total (en las tres generaciones del ácaro) o parcial (en una de las generaciones), los manejos relacionados para el restablecimiento de la biodiversidad nativa y los cambios de paradigma que se accionan para desarrollar sistemas ganaderos resilientes. Asimismo, se discuten los desafíos que tienen las instituciones públicas y las organizaciones rurales para continuar en el camino de las transiciones agroecológicas iniciadas.

Financiamiento: fondos de BIO Uruguay y Convenio con DGDR/MGAP

O20: Rizobacter y su objetivo de ofrecer al mundo productos microbiológicos innovadores para la agricultura.

Ing. Agr. Fabio Montero

Rizobacter

fmontero@rizobacter.com.ar

Rizobacter, como parte de Bioceres Crop Solutions, es la división especialista en inoculantes y otros productos para la agricultura con una historia de 45 años, llegando a una facturación actual de USD 264 millones y un Market Share de inoculantes de soja del 23% a nivel mundial. Rizobacter tiene una misión enfocada en el desarrollo de productos tecnológicos de alto valor agregado para el mercado agrícola global, y una visión hacia el liderazgo de su producción y comercialización. Actualmente se encuentran en marcha cuatro grandes proyectos, abarcando la ampliación de plantas y la incorporación de nuevas tecnologías en inoculantes (total: USD 47 millones). Las líneas de desarrollo comprenden Biológicos o Bioinsumos, Protección de Cultivos, Nutrición Vegetal, Servicios, y Semillas llegando a ser cada uno de ellos un bloque de tecnologías y productos innovadores. Biológicos abarca Inoculantes y Bioinductores, Bioestimulantes y Biocontrol. Dentro de Biológicos, uno de los proyectos más nuevos es la tecnología de inoculante UHC para soja, con varias ventajas, entre ellas la reducción de dosis y el cuidado ambiental. Los desafíos con los que Rizobacter se encuentra de cara al desarrollo de productos es que los mismos sean innovadores, de alto valor agregado y ofrezcan los máximos estándares de calidad y efectividad y una alta vida útil, y a su vez satisfagan diferentes necesidades y requisitos de tratamientos tanto a nivel de productor como de semilleros que demandan los países con llegada comercial.

O21: Insumos biológicos en la agricultura – una visión desde la industria

Ing. Agr. Martín Lage

Gerente Técnico – Lage y Cía. S.A. – Lallemand Uruguay

lagem@lageycia.com

Los diferentes rubros de producción agrícola han tenido importantes avances en las últimas décadas debido a la fuerte adopción de tecnología en todos los procesos involucrados, lo que ha permitido importantes aumentos en términos de eficiencia de uso de los recursos y aumentos de productividad. También ha aumentado la intensificación de los sistemas, lo cual, en muchas situaciones, ha generado grandes desafíos con respecto a la conservación de los recursos naturales. En los últimos años, es muy claro el creciente interés por productos biológicos a base de microorganismos en forma complementaria o sustitutiva de los insumos clásicos como agroquímicos y fertilizantes minerales, ya que las herramientas biológicas presentan gran potencialidad, con menor impacto ambiental.

Lallemand es una empresa de origen canadiense que a través de su división Plant Care apuesta al desarrollo, elaboración y comercialización de insumos biológicos para uso en diferentes sistemas de producción agrícola, actuando en los principales mercados a nivel mundial. Dentro de su portafolio, se encuentran inoculantes, promotores del crecimiento vegetal, biofungicidas, bionematicidas y bioinsecticidas. En Lallemand, todos los procesos productivos (preservación, escalado, fermentación, formulación y envasado) son específicamente diseñados en función del tipo de microorganismo y cepa empleados, para garantizar la máxima calidad del formulado. En forma complementaria a la calidad intrínseca de los productos biológicos, se deben considerar todos los aspectos relacionados a la forma de uso y el ambiente en el que van a ser aplicados. Las evaluaciones a campo, en el propio sistema de producción agrícola, son sumamente necesarias para validar el potencial de los diferentes microorganismos como insumos biológicos y elaborar las recomendaciones técnicas necesarias para maximizar su eficacia. Si bien existen varios desafíos en el uso de los productos biológicos, los mismos presentan grandes ventajas agronómicas y ambientales, que explican la clara tendencia a una mayor incorporación en los distintos esquemas de producción agrícola.

P15: Compuestos derivados de Microorganismos

Diez Nelson

Ing. Agr. BIOKROP, Uruguay.

nelson@biokrop.com

Se estima que el holobionte de las plantas terrestres, definido como la planta y su fito microbioma asociado, tiene casi 500 millones de años. La coexistencia de plantas y microorganismos depende en gran medida de una cascada de productos químicos producidos por ambos socios, como medio de comunicación (señales), fuente de alimento o simplemente como mecanismo de supervivencia. La planta casi siempre regula la composición del fito microbioma, especialmente en su rizosfera, en función de su estado y el de su entorno, principalmente, a través del tipo de exudados que produce. Entre los fito microbiomas se encuentran organismos que pueden promover el crecimiento de las plantas, que comúnmente se denominan microorganismos promotores del crecimiento de las plantas (PGPM). Las PGPM son muy diversas, con un número sustancial de cepas, especies y géneros, principalmente bacterias y hongos. Se han aislado varias PGPM de la rizosfera y las plantas, para su uso en la producción de inoculantes, para mejorar la producción de cultivos. El uso de PGPM, como inoculantes, en la producción de cultivos es una práctica común en muchas partes del mundo, para aumentar la productividad y la sostenibilidad. A pesar de su éxito indiscutible, se ha visto limitado por una serie de problemas, en particular, inconsistencias, especialmente en condiciones de campo. A pesar de esto último, las contribuciones del PGPM a la producción de cultivos orgánicos y la productividad del suelo siguen siendo enfoques valiosos. También existe un impulso para minimizar el uso extensivo de productos químicos en la producción agrícola, debido a los efectos sobre el medio ambiente y la salud humana, relacionados con su uso. Por lo tanto, es necesario abordar las limitaciones relacionadas con la tecnología PGPM, lo que permite un uso más exitoso. El enfoque más reciente es el uso de compuestos derivados de PGPM (Prebióticos) como alternativas, suplementos o complementos de las células microbianas.

P16: Sistema uruguayo de fiscalización de inoculantes: complementación interinstitucional

Barlocco C¹, Mayans M², Mortalena M¹, López V¹, Beyhaut E¹

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa de Producción y Sustentabilidad Ambiental, Plataforma de Bioinsumos, Laboratorio de Microbiología de Suelos, Estación Experimental INIA Las Brujas, Ruta 48 km 10, 90200 Canelones, Uruguay.

² Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP), Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSA). Millán 4703 Montevideo, Uruguay.

* cbarlocco@inia.org.uy

Uruguay inició en la década de los sesenta, el desarrollo de tecnología para elaborar inoculantes de alta calidad para leguminosas, que fueron ampliamente adoptados por el sector productivo. Anualmente, la soja y las forrajeras inoculadas con rizobios aportan nitrógeno proveniente de la atmósfera por un valor estimado de 450 millones de dólares, demostrando la relevancia de esta tecnología tanto por la reducción de costos, como por la disminución del impacto ambiental negativo asociado al uso de fertilizantes de síntesis. El país ha creado plataformas científico-tecnológicas a través de la cooperación interinstitucional INIA-MGAP, modernizando el sistema de fiscalización de la producción y comercialización de inoculantes y la preservación de la Colección Nacional de Cepas de Rizobios, dando continuidad al sistema de registro y control de calidad de estos bioinsumos. En la actualidad existen 67 inoculantes registrados para leguminosas forrajeras y de grano, y seis registros de semillas preinoculada, provenientes de 12 empresas formuladoras. El 38% de los registros corresponden a inoculantes líquidos para soja (71% son importados) y el 54% a inoculantes turba (82% nacionales). El 8% restante representa a las semillas preinoculadas, *Medicago sativa* con periodo autorizado de espera máxima entre inoculación y siembra de 21 días, y soja con tiempos de espera desde 26-35 días dependiendo del inoculante y del curasemilla utilizado. El sistema uruguayo de fiscalización de inoculantes proporciona un modelo para la concreción de tecnologías para la agricultura basadas en el uso de microorganismos. En los últimos años, se amplió el marco normativo a MPCV dando lugar al registro de inoculantes formulados en base a *Pseudomonas*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum*, *Bacillus* y hongos micorrícicos. El éxito está condicionado a un fuerte compromiso de políticas de Estado para la investigación y la armonización del marco normativo asociadas a políticas de educación y extensión para la adopción adecuada de insumos biológicos.

ANEXO

REPRODUCCIÓN AUTORIZADA DE POSTERS

P1, P2, eP4, P5, P7, P8, P9, P10, P11, P12, eP13, P16

Análisis genómico del aislamiento *Pseudomonas* sp. BP01: posible definición de una nueva especie dentro del grupo *P. putida*



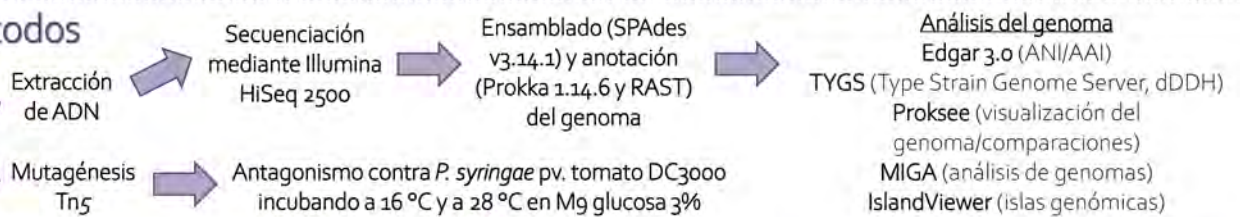
Betina Agaras^{1*} - J. Herán² - A. Iriarte² - S. Heeb³ - M. Camara⁴ - C. Valverde¹ - P. Sobrero¹

¹LFGBBP, UNQ, Bernal, Argentina. ²Lab. de Biología Computacional, Fac. de Medicina, UdeLaR, Montevideo, Uruguay. ³Synthetic Biology Research Centre, Univ. Nottingham, UK. ⁴National Biofilm Innovations Centre, Univ. Nottingham, UK
*betina_agaras@yahoo.com.ar

Introducción

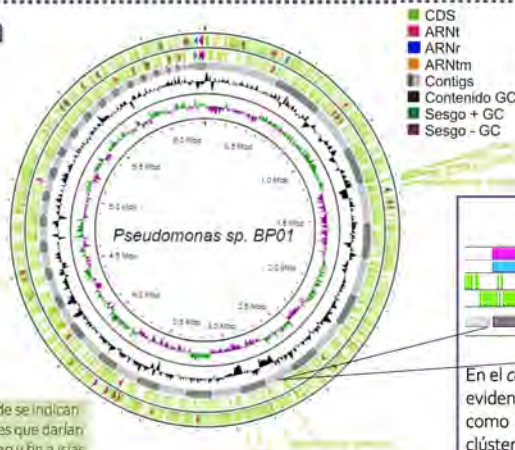
Diversos representantes del género *Pseudomonas* poseen actividades probióticas vegetales, convirtiéndolos en blancos interesantes para el desarrollo de agrobioinsumos. El aislamiento BP01 mostró una característica particular: la producción de un pigmento oscuro en determinadas condiciones de crecimiento, como el medio mínimo M9 con glucosa 3%. BP01 demostró *in vitro* actividad antibacteriana contra diferentes fitopatógenos, la cual desaparece en mutantes defectivos en la producción del pigmento. A partir de estos resultados, decidimos secuenciar su genoma. Análisis genéticos preliminares mostraban alta similitud con *P. putida* S13.1.2. Al revisar la asignación de esta cepa, notamos que se hizo sólo con el gen 16S ARNr (doi: 10.1186/s13568-016-0269-x), lo cual es insuficiente para este género. La asignación taxonómica en este grupo está siendo revisada (doi: 10.3390/microorganisms9081766). Este trabajo presenta evidencia para sustentar que BP01 pertenece a una nueva especie dentro de este grupo.

Materiales y métodos

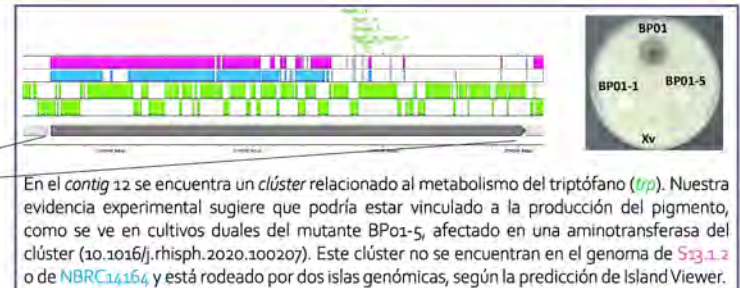


Resultados y discusión

Atributo	Valor
Tamaño del genoma	6.329.205 pb
Nro de cromosomas	1
Porcentaje de G+C	62,17%
Contigs	220
Longitud máxima contig	457.239 pb
N50	166.604 pb
Profundidad de cobertura	104X
CDS	5660
ADN codificante	88,91%
Genes ARNr	8
Genes ARNt	77
Genes ARNtm	1
Longitud promedio CDS	989,80 pb
Longitud máxima CDS	20.706 pb
Genes con COG identificados	2.295
Proteínas hipotéticas	2.020

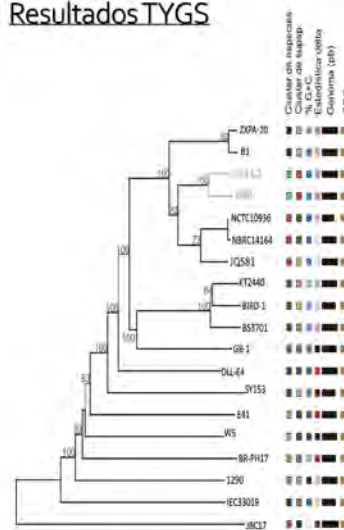


El genoma de BP01 mostró una longitud y contenido de información acorde a lo encontrado para bacterias del grupo *Pseudomonas putida* (tamaño entre 4,6 y 6,6 Mpb; entre 4072 y 6469 genes, doi:10.3390/d11110204). Se encontró sólo una copia del 16S ARNr. Se identificaron al menos 4 islas genómicas que coinciden con zonas donde el contenido GC mostró variaciones significativas.



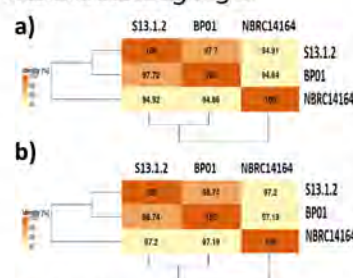
En el contig 12 se encuentra un clúster relacionado al metabolismo del triptófano (*trp*). Nuestra evidencia experimental sugiere que podría estar vinculado a la producción del pigmento, como se ve en cultivos duales del mutante BP01-5, afectado en una aminotransferasa del clúster (10.1016/j.rhisph.2020.100207). Este clúster no se encuentran en el genoma de S13.1.2 o de NBRC14164 y está rodeado por dos islas genómicas, según la predicción de Island Viewer.

Resultados TYGS



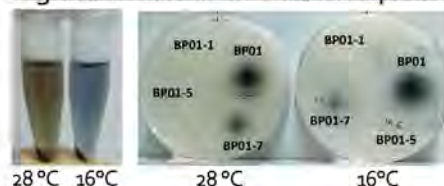
Los resultados con el servidor TYGS a partir de 19 genomas de representantes del grupo *P. putida* sugieren que tanto S13.1.2 como BP01 pertenecen al grupo, pero constituirían una nueva especie. La filiación original de S13.1.2 se realizó sólo con el gen 16S ARNr. El valor de hibridación digital de ADN-ADN (dDDH) fue 80,2% con S13.1.2 y 60,0% con NBRC14164, y el límite para definir especie se ha establecido en 70,0%.

Resultados Edgar 3.0



Los análisis de identidad nucleotídica (ANI, a) y de identidad aminoacídica (AAI, b) con las cepas NBRC 14164 y S13.1.2 mostraron que BP01 mostró la mayor identidad con S13.1.2, mientras que los valores para NBRC14164 fueron inferiores al límite de definición de especie (95% para ANI). Respecto del AAI, se debe tener en cuenta el alto grado de proteínas hipotéticas que presenta el genoma de BP01. Resultados similares se obtuvieron con el servidor microbial-genomes.org (MIGA).

Pigmentación a diferentes temperaturas



La temperatura de incubación modifica la producción del/de los pigmento/s, observándose un color más azulado a temperaturas bajas (16 °C). Sin embargo, el antagonismo se mantiene, obteniendo halos de inhibición similares independientemente de la T de incubación.

Conclusiones

Los resultados obtenidos a partir del análisis del genoma con diferentes herramientas sugieren que BP01 y S13.1.2 pertenecen a una nueva especie dentro del grupo *P. putida*. Además, el compuesto antibacteriano estaría vinculado a la pigmentación, la cual varía con la T de incubación.

Inoculación de bacterias endofíticas de *Nicandra physalodes* (Linn.) Gaertn "Capulí cimarrón" incrementa el índice de vigor en *Solanum lycopersicum* (L). "tomate" variedad Rio Grande.

Valdez-Núñez, R. A.^{1,3*}; Andrés-Blas, J.A.²; Cuba-Gutiérrez, E.M.²

¹ Laboratorio de Investigación y Biotecnología. Departamento de Ciencias Básicas y Afines. Universidad Nacional de Barranca, Barranca, Lima-Perú; ² Escuela de Ingeniería Agrónoma. Universidad Nacional de Barranca-Perú; ³ Grupo de Investigación en Bioprospección y Biotecnología Microbiana (BIOBIM).

Autor de contacto: rvaldez@unab.edu.pe

INTRODUCCIÓN

Una estrategia sostenible para incrementar la productividad de los cultivos es el empleo de microorganismos asociados a plantas, estos microorganismos promueven el crecimiento y les protegen de factores bióticos (Raymaekers et al., 2020) y abióticos (Guo et al. 2020). La bioprospección de bacterias endofitas asociadas a plantas nativas es una buena estrategia para el desarrollo de bioinsumos (Liu et al. 2016), debido a que las plantas nativas se encuentran adaptadas a condiciones constantes de estrés (Brígido et al. 2019).

Nicandra physalodes (Linn.) Gaertn, "Capulí cimarrón" (Solanaceae), es cosmopolita, pero nativa de Perú y el norte de Argentina (Hunziker, 1979). El capulí cimarrón es una importante fuente de moléculas antitumorales, antibacterianas, inmunomoduladoras (Zhang et al., 2019), anti-diabéticas (Behl et al. 2022), así como de pectina (Yu et al., 2017). Estas características hacen del capulí cimarrón una planta de interés como reservorio de metabolitos con potencial biotecnológico.

Son escasos los estudios sobre microbiota asociada a *N. physalodes* a nivel mundial (Batista, 2015; León y Rojas, 2015), por lo que este trabajo constituye el primer reporte de bacterias endofitas aisladas de *N. physalodes*. El objetivo del trabajo fue aislar bacterias endofitas de capulí cimarrón y evaluar su capacidad promotora de crecimiento en *S. lycopersicum* variedad Rio grande a través del índice de vigor bajo condiciones *in vitro*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 18 aislados bacterianos potenciales endofitos. 14 aislamientos de raíz (77.8%), 3 aislamientos de tallo (16.7%) y 1 aislamiento de hoja (5.5%) (Figura 1). Las bacterias endofíticas son capaces de colonizar y dispersarse a varios órganos de la planta incluyendo raíces, hojas, tallos, flores y semillas (Kandel et al., 2017).

Todos los aislados presentaron forma bacilar. El 83.3% de los aislados (15) tuvo reacción Gram positiva, de las cuales solo el 42.9% (6) presentaron esporas en cultivos mayores a 72 horas (Figura 2). La esporulación bacteriana es una característica restringida únicamente al Phylum Firmicutes (Ramos-Silva et al., 2019), siendo reportado frecuentemente como endofito de plantas, el género *Bacillus* (Gond et al., 2015).

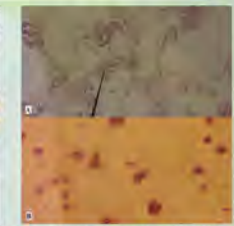
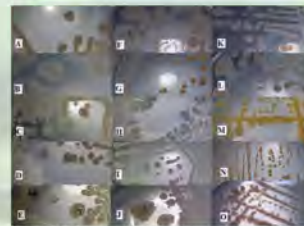


Figura 1. Aislamientos de posibles bacterias endofitas

Figura 2. Aislamientos de bacterias endofitas esporuladas

Con respecto a la germinación, solo el 11,1% de las cepas aisladas de *N. physalodes* (2.1 y 9.1) incluyendo la cepa control *Bacillus siamensis* SMBR13-04, fueron estadísticamente superiores al tratamiento sin inocular. De igual forma, la cepa 2.2 mejoraron de manera significativa la longitud del hipocótilo (Tabla 1).

Solo 4 cepas (2.1, 9.1, 2.2 y 2.3), incluyendo *Bacillus siamensis* SMBR13-04, presentaron un índice de vigor superior a 5000 (Tabla 1). Estas diferencias en el índice de vigor pueden explicarse debido al efecto intrínseco del tipo de bacteria inoculada y cómo influye sobre el desempeño, sobre la tasa y uniformidad de la germinación y crecimiento de la planta, y por ende de la habilidad de la semilla para emerger en condiciones desfavorables (FAO, 2018), situación que es aliviada empleando bacterias endofíticas.

Tabla 1. Efecto de la inoculación de bacterias endofitas aisladas de *N. physalodes* sobre la germinación e índice de vigor en *S. lycopersicum* bajo condiciones *in vitro*.

Tratamiento	Germinación		LC		LR		Índice de vigor	
	%	mm	mm	mm	%	mm	%	
2.1	83.23 (± 0.57) ^A	28.00 (± 0.89) ^{BCD}	28.00 (± 0.89) ^{BCD}	44.00 (± 0.62) ^{AB}	5992.56			
9.1	88.33 (± 0.17) ^A	27.20 (± 0.52) ^{BCD}	27.20 (± 0.52) ^{BCD}	40.00 (± 0.71) ^{ABC}	5935.78			
2.2	74.09 (± 0.42) ^B	31.80 (± 0.38) ^B	31.80 (± 0.38) ^B	47.80 (± 1.38) ^A	5897.56			
2.3	67.30 (± 3.17) ^{BCD}	46.60 (± 1.65) ^A	46.60 (± 1.65) ^A	37.60 (± 1.19) ^{BCD}	5666.66			
<i>B. siamensis</i> SMBR13-04	85.50 (± 0.96) ^A	28.00 (± 0.55) ^{BCD}	28.00 (± 0.55) ^{BCD}	30.60 (± 0.64) ^{DEF}	5010.30			
10.1	61.62 (± 0.82) ^{DE}	29.00 (± 0.47) ^{BCD}	29.00 (± 0.47) ^{BCD}	46.80 (± 1.12) ^A	4670.80			
8.1	70.38 (± 0.31) ^{BC}	27.60 (± 1.98) ^{BCD}	27.60 (± 1.98) ^{BCD}	37.20 (± 2.02) ^{BCD}	4560.62			
16.1	61.50 (± 0.38) ^{DE}	31.20 (± 1.26) ^{BC}	31.20 (± 1.26) ^{BC}	41.80 (± 1.93) ^{AB}	4489.50			
Sin inocular	74.12 (± 0.37) ^B	23.60 (± 0.92) ^{CD}	23.60 (± 0.92) ^{CD}	32.80 (± 1.54) ^{CDE}	4180.37			
CV (%)	7.36	18.53	18.53	16.27				

Los valores son promedio y cada valor seguida de la misma letra en cada columna no son significativos entre ellas de acuerdo con Duncan ($p < 0.05$) (± Error Estándar). LC: Longitud de coleóptilo; LR: Longitud de radícula.

Todas las cepas de bacterias seleccionadas lograron promover el peso seco total (PST) respecto al tratamiento control (Tabla 2), sin embargo, la cepa 2.2 incrementó los valores de manera significativa en un 11.90% la longitud de parte aérea (LPA), en un 24.60% la longitud radical (LR) y en un 54.50% el PST, respecto al control sin inocular (Figura 3).

El incremento de la LR por las cepas 2.1 y 2.2 se evidencia en la aparición de raíces secundarias tal como puede apreciarse en la figura 2A, así como de raíces laterales por la cepa 2.3 (Figura 3). El incremento de raíces secundarias se debe a la producción de fitohormonas, capaces de incrementar el volumen radical para una mejor exploración en el suelo (Gowtham et al. 2017).

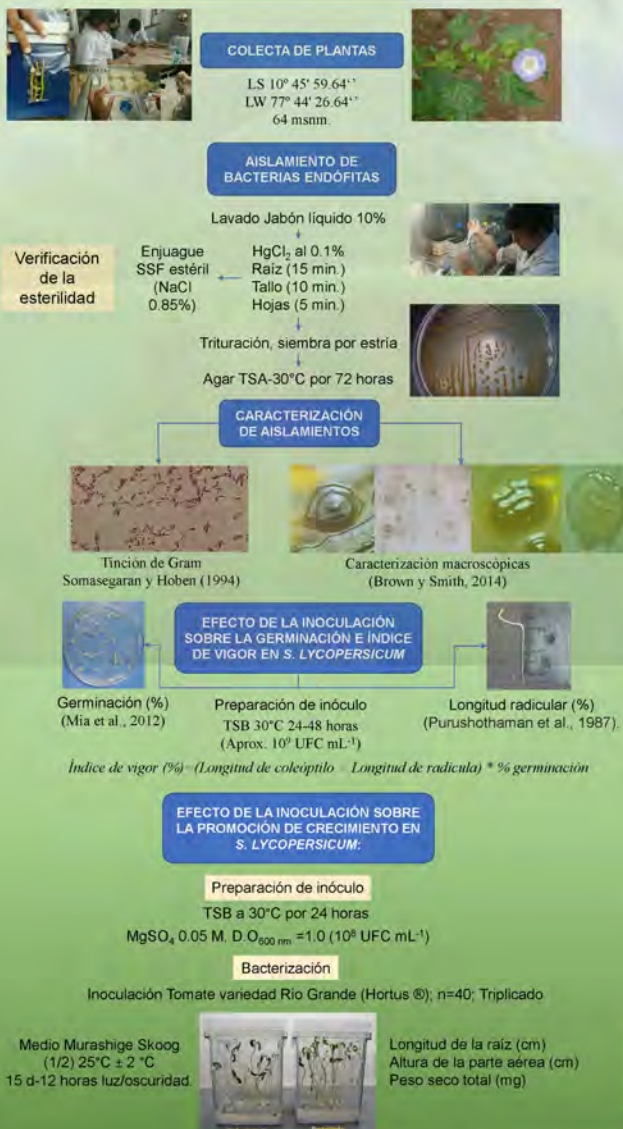
Tabla 2. Efecto de la inoculación de cepas de bacterias endofitas de *N. physalodes* sobre el crecimiento de *Solanum lycopersicum* var. Rio grande bajo condiciones gnotobióticas.

Tratamiento	LPA (cm)	LR (cm)	PST (mg planta ⁻¹)
2.2	13.21 (± 0.16) ^A	6.23 (± 0.17) ^A	25.89 (± 0.63) ^A
2.1	12.53 (± 0.34) ^B	5.19 (± 0.08) ^B	16.63 (± 1.11) ^B
2.3	12.25 (± 0.08) ^{BC}	4.98 (± 0.08) ^B	18.81 (± 0.53) ^B
Control	11.81 (± 0.05) ^{CD}	5.00 (± 0.09) ^B	16.76 (± 0.09) ^B
9.1	11.58 (± 0.23) ^D	4.96 (± 0.09) ^B	18.66 (± 0.12) ^B
CV (%)	4.64	5.33	11.93
R ²	0.54	0.77	0.71



Figura 3. Inoculación de cepas 2.2 y 2.3 sobre *S. lycopersicum*

MATERIAL Y MÉTODOS



CONCLUSIONES

N. Physalodes es un reservorio de bacterias endofíticas con potencial capacidad de promover el crecimiento de *S. lycopersicum* bajo condiciones preliminares de laboratorio. Se pretende dilucidar la afiliación taxonómica y los mecanismos de promoción de crecimiento de las cepas promisorias como un recurso inoculante para el cultivo de *S. lycopersicum* en la región costa central de Perú.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Barranca, por el financiamiento para la formación del Grupo Estudiantil de Investigación en Ciencia, Tecnología e Innovación-Bioprospección y Biotecnología Microbiana (BIOBIM), a través del concurso de Iniciativa científica para grupos estudiantiles dedicados a la investigación en ciencia, tecnología e innovación (GEI), con resolución N° 552-2019-UNAB/N710-2019-UNAB

Exploration of culturable bacterial seed microbiota of tree species from Uruguayan riparian forests

Patricia Vaz Jauri, Carla Silva, Tania Trasante, Alexander Tió, María A. Morel, Christine Lucas and Adriana Montañez

Native species conservation is inextricably associated with their microbiota.



Interest in plant species conservation is growing. We aimed to explore the **endophytic microbiota of seeds** from 6 riparian tree species (1 exotic & invasive). Restoration programs must consider microbial community composition to increase plant health.

Our aim:



isolation



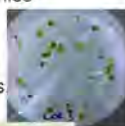
characterization



selection

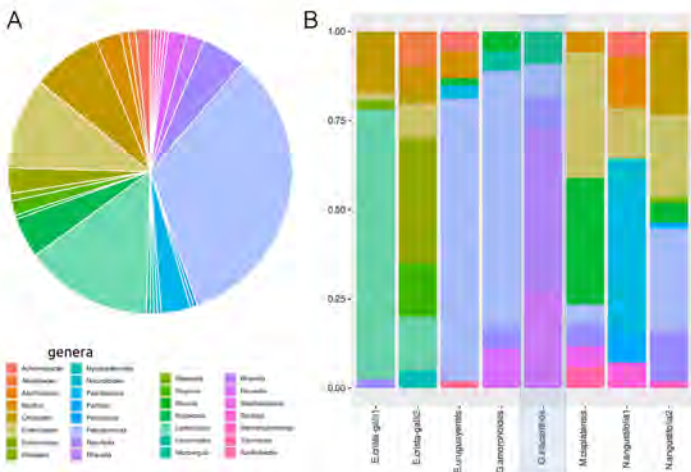
Methodology

- Surface-sterilized seeds from *Erythrina crista-galli* (2 sites), *Eugenia uruguayensis*, *Gleditsia amorphoides*, *Gleditsia triacanthos* L., *Myrcianthes cisplatensis*, *Nectandra angustifolia* (2 sites).
- 5 different culture media, all morphologically different bacterial colonies from each plate were collected.
- Identification via 16S rRNA gene sequencing.
- Plant growth promotion on *Brassica juncea* of a selection of isolates



Results

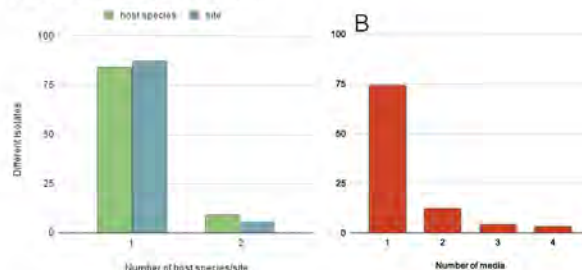
1. Identification to the genus level through 16S rRNA sequencing



A. Overall, identified isolates belonged to a total of 28 genera. *Pseudomonas*, *Lactococcus* and *Enterobacter* were the most frequently found in all the collection.

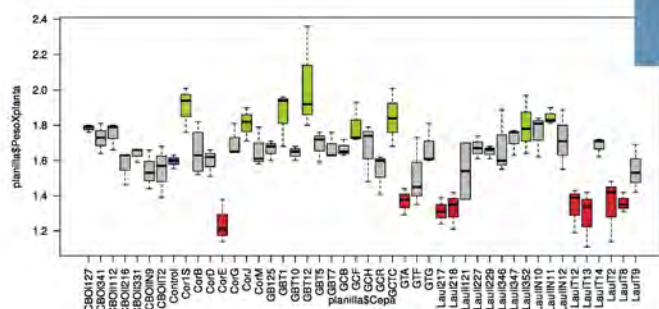
B. All hosts differed in their seed endophytes composition. *G. triacanthos* is the exotic species.

2. Frequencies of isolation



Considering identical isolates with a genetic Tamura-Nei distance of 0.005: A, most isolates were found only in one host species and one site, with the exception of 9 and 6 isolates, respectively; B: 74 were isolated only from 1 culture medium, while only 7 were isolated from 3 & 4 media.

3. Plant growth promotion activity



Of 46 isolates of different genera and host were tested for their growth promotion of mustard (*B. juncea*), 8 significantly increased dry weight of plants.

Conclusions

- A collection of 231 isolates was obtained. Community composition at the genus level differed among hosts.
- Using several culture media proved useful for increasing the number of different isolates of the collection. Highly similar isolates were found mostly in the same host and site.
- Initial phenotypic screening rendered at least 8 isolates with promising biotechnological interest.



Tiscornia Susana¹, Abreo Eduardo², Martínez Gonzalo³, Lupo Sandra¹

¹ Sección Micología, Facultad de Ciencias-Universidad de la República. Iguá 4225. Montevideo 11400, Uruguay

² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Estación Experimental Las Brujas. Uruguay

³ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Estación Experimental Tacuarembó. Uruguay



INTRODUCCIÓN

Gonipterus platensis es un insecto plaga originario de Australia cuya presencia en Uruguay se conoce desde 1937. Afecta a las plantaciones de varias especies de *Eucalyptus* y constituye un importante problema, dado que las larvas y adultos se alimentan de las hojas. En Uruguay los adultos están presentes todo el año y las larvas presentan dos picos de abundancia en octubre y marzo (Rosales 2016).

El control de estos coleópteros se hace con insecticidas o mediante la introducción de un parasitoide *Anafens nitens* que infecta las ootecas. Para ello es necesario hacer varias introducciones del controlador además de producirlo. Otra alternativa es el uso de hongos entomopatógenos los cuales son capaces de colonizar los insectos y matarlos. En Uruguay, hasta el momento existen pocos estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para controlar especies de *Gonipterus*. Lupo et al. (2006) demostraron mediante estudios en laboratorio y campo la capacidad de los hongos *Beauveria* sp. y *Metarhizium robertii* de infectar adultos y larvas de *Gonipterus* sp. Sin embargo prácticamente no existe información sobre el uso de productos formulados.

En el presente trabajo el objetivo planteado fue evaluar la patogenicidad de dos micoinsecticidas formulados y desarrollados en base a dos cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*

METODOLOGÍA

Se evaluó en condiciones de laboratorio la aplicación de dos productos formulados con cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. Las cepas utilizadas (ILB308 e ILB205) fueron obtenidas a partir de insectos infectados en el marco del proyecto Desarrollo de bioinsecticidas (entomopatógenos) para el control de la chinche del eucalipto, estas formulaciones mostraron ser efectivas para el control de *Taumastocoris* (Abreo et al. 2019)

Los adultos de *Gonipterus platensis* se obtuvieron de plantaciones de INIA y fueron mantenidos durante 10 días en el laboratorio antes de ser inoculados con el objetivo de descartar infecciones provenientes del campo.

Los tratamientos consistieron en la aplicación por inmersión de los insectos en una suspensión de 1×10^7 esporas/ml contenidas en cada producto formulado. Se realizaron tres controles: uno solo con el soporte sin las esporas, otro control al cual solamente se aplicó agua tween al 0,02% y uno sin aplicación. Para cada tratamiento se colocaron 20 insectos en jaulas con hojas de *Eucalyptus globulus* como alimento (Figura 1). Se registró diariamente la mortalidad de los insectos y cada insecto muerto se retiró de la jaula y se transfirió a una cámara húmeda para evaluar la emergencia del hongo entomopatógeno (Figura 2). Se realizaron 3 réplicas de cada tratamiento. Se calculó la mortalidad acumulada y la tasa de supervivencia en los diferentes tratamientos. Los ensayos se repitieron dos veces.



Figura 1. Jaula conteniendo individuos de *Gonipterus platensis*



Figura 2. Individuos de *G. platensis* evidenciando el crecimiento de *B. bassiana*

RESULTADOS

Ambas formulaciones produjeron la muerte de los individuos, siendo ésta de 19 y de 18 individuos a los 12 días de inoculados para los productos formulados con las cepas de *B. bassiana* ILB308 e ILB205 respectivamente. En los controles la mortalidad acumulada varió entre 1 y 6 (Figura 3).

El formulado con la cepa ILB308 resultó más eficiente que ILB 205 ya que mató un mayor número de individuos en menos tiempo. La tasa de supervivencia de los insectos fue significativamente menor con el tratamiento ILB308 (Figura 4). Para ambos productos evaluados se recuperó el hongo inoculado en el 90 % los insectos muertos.

Estos resultados demuestran la efectividad de ambos productos en condiciones de laboratorio y abren un escenario promisorio para su aplicación en campo.

Mortalidad Acumulada

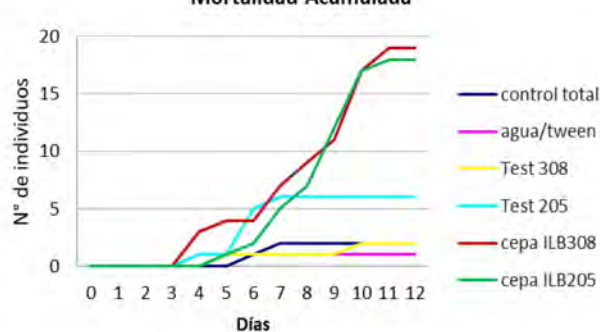


Figura 3. Mortalidad acumulada con los diferentes tratamientos

Survival Analysis

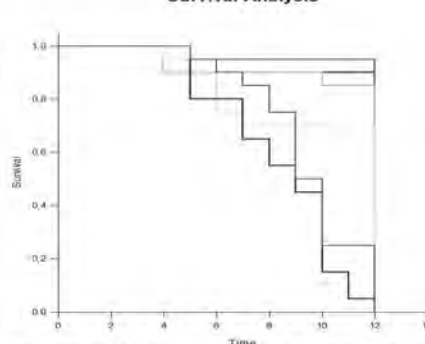


Figura 4 tasa de supervivencia calculada mediante Kaplan Meier

Multiple Comparisons:

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Dunn-Sidak method)
Overall significance level = 0,05

Comparisons	Statistic	P Value	Significant?
Agua tween vs. Trat. ILB308	31,486	0,000000501	Yes
Control total vs. Trat. ILB308	25,889	0,000000598	Yes
Control 308 vs. Trat. ILB308	23,522	0,000000161	Yes
Agua tween vs. Trat. ILB205	18,678	0,000186	Yes
Control total vs. Trat. ILB205	14,591	0,00147	Yes
Control 308 vs. Trat. ILB205	12,735	0,00358	Yes
Control 205 vs. Trat. ILB308	12,103	0,00452	Yes
Control 205 vs. Trat. ILB205	4,612	0,227	No
Agua tween vs. Control 205	3,962	0,284	No
Control total vs. Control 205	2,114	0,632	No
Trat. ILB308 vs. Trat. ILB205	2,022	0,569	No
Control 308 vs. Control 205	1,138	0,740	No
Agua tween vs. Control 308	1,069	0,659	No
Control total vs. Agua/tween	0,351	0,861	No
Control total vs. Control 308	0,213	0,644	No



Bibliografía

Abreo, et al. 2019. Dual selection of *Beauveria bassiana* strains and complex substrate media for the massive production of submerged propagules with activity against the eucalyptus bronze bug *Taumastocoris peregrinus*. *Biocontrol Science and Technology*,
Lupo et al. 2006. Control biológico de *Gonipterus* sp. con hongos. II Simposio Iberoamericano del *Eucalyptus globulus*. Pontevedra.
Rosales, Ma Pia, 2016. Dinámica poblacional de *Gonipterus Scutellatus* y *Anaphes Nitens* en la región sur-este de Uruguay Tesis de maestría. Facultad de Agronomía



Bacillus sp. UY6A: una cepa aislada de nódulo de *Lupinus multiflorus* con características promisorias como agente de control biológico

Costa A¹, Corallo B², Amarelle A¹, Tiscornia S², Stewart S³, Pan D², Fabiano E¹

¹ Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas (BIOGEM).

Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable". Ministerio de Educación y Cultura

² Sección Micología. Facultad de Ciencias-Facultad de Ingeniería. UdelaR

³ Programa Nacional de Cultivos de Secano, INIA- La Estanzuela

Introducción

Las enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos son responsables de ocasionar pérdidas devastadoras en cultivos agrícolas. Para disminuir el uso excesivo de pesticidas químicos, una de las estrategias empleadas consiste en el uso de agentes microbianos de control biológico. La microbiota presente en suelos saludables o asociada a las plantas contiene naturalmente microorganismos capaces de proteger a la planta de enfermedades y por lo tanto son ideales para la prospección de microorganismos con capacidad controladora. A partir de un nódulo radicalar de una planta saludable de *Lupinus multiflorus* colectada en un pastizal psamófilo de la localidad de La Pedrera en el departamento de Rocha, Uruguay, aislamos la cepa UY6A. El análisis de homología de la secuencia del gen 16S rRNA mostró que esta cepa pertenecía al género *Bacillus*, género que se caracteriza por contener especies bacterianas con capacidad de antagonizar diversos fitopatógenos

Objetivo

El propósito de este trabajo fue el de evaluar la capacidad de la cepa *Bacillus* sp. UY6A como posible agente de control biológico frente a hongos fitopatógenos.

Metodología y resultados

1. Afiliación filogenética de la cepa *Bacillus* sp. UY6A en base al análisis de la secuencia del gen 16s rRNA

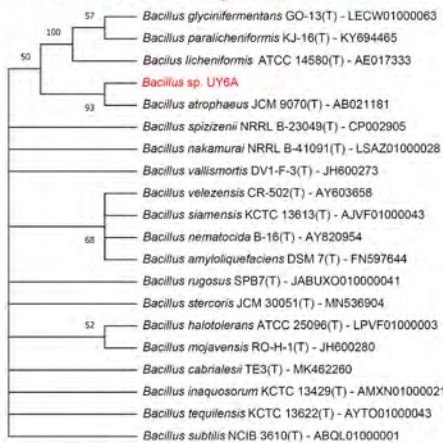


Fig 1. Se construyó un árbol filogenético con MEGA X en base a 19 secuencias del gen 16s rRNA pertenecientes a las cepas tipo más cercanas respecto de la cepa UY6A obtenidas de EtBioCloud (<https://www.etbiocloud.net/>). Las relaciones internas al grupo de secuencias fueron inferidas mediante el método de máxima verosimilitud y el modelo Hasegawa-Kishino-Yano +G +I

2. Evaluación de la capacidad antagonica por metabolitos volátiles



Fig 2. Se tomaron discos con sacabocados a partir de cultivos puros de los patógenos y se inocularon en el centro de la placa con medio PDA. La bacteria se inoculó a partir de 100 µL de cultivo líquido fresco por rasstrillado en otra placa con medio PDA, ambas placas se enfrentaron y sellaron con Parafilm quedando el hongo en la placa superior. En la fila de arriba se muestra el control del hongo sin enfrentar a la UY6A mientras que en la fila de abajo se muestra el hongo enfrentado a la bacteria

3. Volatiloma UY6A

Compuesto ^a	TR (min) ^b	Área (%)
3-hydroxy-2-butanone (Acetoina)	3,997	59
3-methyl-2-pentanone	4,832	0,05
2-methyl- (Acido propanoico)	5,005	0,10
2,3-Butanediol	6,457	15,50
3-methyl- (Acido butanoico)	8,708	0,40
2-propyl-1-pentanol	17,922	0,18

Tabla 2. Compuestos volátiles relevantes producidos por la cepa UY6A en medio PDA detectados por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. ^a: Compuestos identificados mediante comparación contra librerías de referencia (NIST 08, Wiley 139).^b: Tiempo de retención

5. Otras características analizadas

Característica analizada	Fenotipo
Presencia gen <i>nifH</i>	-
Movilidad tipo swarming	+
Interacción con la nodulación de alfalfa por rizobio (<i>Smorhizobium melillati</i> 242)	-
Coexistencia con <i>Bradyrhizobium elkanii</i> 1302 y 1301	+

Tabla 3. Ensayos realizados in vitro para la caracterización de rasgos varios. presencia del gen *nifH* mediante PCR; La movilidad tipo swarming fue evaluada en medio PDA agar 1.8%. Se evaluó la capacidad de la UY6A para coexistir con las cepas 1302 y 1301 de *Bradyrhizobium elkanii* incluidas en medio PDA agregando la UY6A en forma de gota.

4. Evaluación de la capacidad antagonica por metabolitos difusibles

Se seleccionaron cepas de hongos y oomicetes pertenecientes a la sección de Micología de Facultad de Ciencias y al Laboratorio de Fitopatología de INIA-La Estanzuela. Los inóculos de hongos y oomicetes (en forma de disco) se dispusieron en el centro de la placa, y la bacteria se inoculó con 3 estrias (en forma de línea) en placas con medio PDA.

Hongo/oomicete	Cultivo de aislamiento	Inhibición por difusibles
<i>Phytophthora sojae</i> Ps09	Soja	+ ²
<i>Phytophthora sojae</i> Ps11	Soja	+
<i>Phytophthora sojae</i> Ps25	Soja	+
<i>Phytophthora sojae</i> Ps28	Soja	+
<i>Phytophthora sojae</i> Ps35	Soja	+
<i>Phomopsis</i> sp. j83	Soja	+
<i>Phomopsis</i> sp. j87	Soja	++
<i>Phomopsis</i> sp. j664	Soja	++
<i>Phomopsis</i> sp. j821	Soja	++
<i>Phomopsis</i> sp. j429	Soja	++
<i>Macrophomina</i> sp j432	Soja	+
<i>Macrophomina</i> sp j629	Soja	+
<i>Macrophomina</i> sp j745	Soja	+
<i>Macrophomina</i> sp j746	Soja	+
<i>Macrophomina</i> sp j431	Soja	+
<i>Sclerotinia</i> sp. FI2525	Soja	++
<i>Sclerotium rolfsii</i> FI1948	Remolacha	+
<i>Sclerotium</i> sp. 2527	Cannabis	+
<i>Rhizoctonia solani</i> Rz01	Soja	+
<i>Pythium</i> sp. Py03	Soja	-
<i>Pythium</i> sp. Py05	Soja	+
<i>Pythium</i> sp. Py06	Soja	+
<i>Pythium</i> sp. Py07	Soja	-
<i>Pythium</i> sp. Py10	Soja	-
<i>Fusarium graminearum</i> j73	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> j117	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> j174	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> j346	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> j660	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> fg13000	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> fg13001	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> fg13002	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> fg13003	Soja	++
<i>Fusarium graminearum</i> fg13006	Soja	++
<i>Fusarium oxysporum</i> j168	Soja	++
<i>Fusarium oxysporum</i> j175	Soja	++
<i>Fusarium oxysporum</i> j250	Soja	+
<i>Fusarium oxysporum</i> S564	Sorgo	++
<i>Fusarium oxysporum</i> j38	Soja	++
<i>Fusarium neocosporiellum</i> 1	Lupino	++

Tabla 3. Capacidad de inhibición del crecimiento del hongo/oomicete a los 8 días.
⁺: no se observa inhibición, + se observa inhibición, ++ mayor inhibición, ND no realizado.



Fig 3. Placas representativas de los resultados obtenidos en el ensayo de antagonismo por metabolitos difusibles.

Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que la cepa UY6A de *Bacillus* es un promisorio agente de control biológico. Es necesario profundizar en la caracterización de sus capacidades y mecanismos así como evaluar in vivo su capacidad de proteger a las plantas de la enfermedad producida por fitopatógenos

Agradecimientos

PEDECIBA Química y Biología
FONTAGRO – proyecto ID30

Biopreparados para la producción agroecológica

Rodríguez N¹, Lassevich D¹, Ruiz J¹, Carro G², Platero R¹, Bajsa N¹

¹ Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, IIBCE, Uruguay.

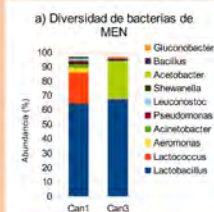
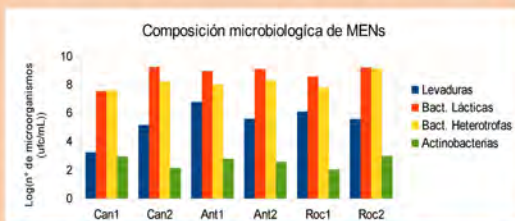
² Espíritu del Bosque; nbajsa@gmail.com

INTRODUCCIÓN: El uso de bioinsumos de elaboración predial o en pequeña escala es una práctica en aumento, principalmente entre productores agroecológicos. Los biopreparados se obtienen a partir de residuos del mismo predio o de fácil adquisición y aportan materia orgánica, nutrientes y microorganismos. Durante su fabricación intervienen procesos microbianos aerobios (en bokashi) o anaerobios (en supermagro, microorganismos eficientes), en preparaciones sólidas o líquidas. Existe amplia información de la eficacia de los biopreparados para mejorar la salud del suelo, la nutrición y sanidad de los cultivos, pero la composición microbiana de los mismos ha sido poco estudiada.

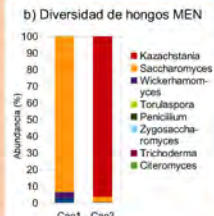
OBJETIVO: Caracterizar la composición microbiana de los biopreparados y el efecto de su aplicación sobre el suelo y cultivos.

MICROORGANISMOS EFICIENTES NATIVOS

Biopreparado líquido, elaborado por fermentación anaerobia a partir de microorganismos del suelo. Contiene principalmente bacterias ácido lácticas y levaduras, y baja diversidad determinada por secuenciación masiva de ADN. La proporción de los grupos microbianos se mantiene entre preparaciones de diferentes orígenes (Canelones, Rocha o Antártida). Presenta bacterias con capacidad antagonista frente a hongos fitopatógenos.



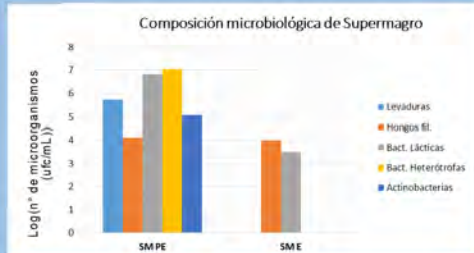
Actividad antagonista de aislamiento bacteriano de MEN frente a *Botrytis cinerea*



SUPERMAGRO

Biopreparado líquido obtenido por fermentación anaerobia de estiércol vacuno con el agregado de sales.

La composición microbiana dependió de las sales utilizadas; el agregado de cobre en la última etapa produjo un preparado con baja carga microbiana (SM E). No se detectaron coliformes fecales.



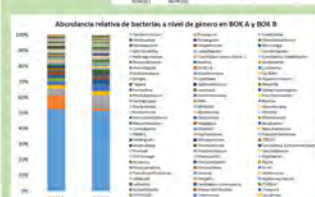
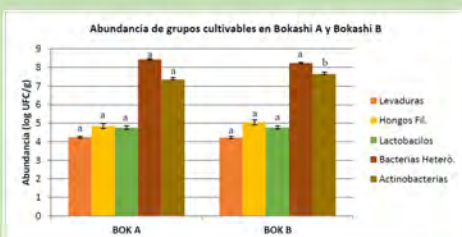
EFECTO SOBRE EL SUELO Y CULTIVO

La aplicación de bokashi aumentó la biomasa seca aérea de lechuga respecto al control (C) Y tanto BOK como MEN aumentaron la biomasa seca de raíces. BOK y MEN presentaron mayor actividad (respiración) microbiana en suelo que la cama de pollo (CP) y los agroquímicos (Ag).

	Peso fresco foliar (grs)	Peso seco foliar (grs)	Seco/fresco foliar	Peso fresco raíz (grs)	Peso seco raíz (grs)	Seco/fresco radicular
C	28,86 c	1,35 b	0,047	1,89 b	0,16 b	0,084
CP	62,44 a	2,27 ab	0,036	3,73 ab	0,39 ab	0,103
Ag	46,56 a	2,11 ab	0,045	1,87 b	0,14 b	0,076
Bok	32,90 b	2,47 a	0,075 *	5,26 a	0,74 a	0,141 *
SM	26,58 c	1,38 ab	0,052	1,41 b	0,17 b	0,122
MEN1	24,20 c	1,65 ab	0,068	2,77 ab	0,34 a	0,124 *
MEN2	23,38 c	1,38 ab	0,059	2,56 ab	0,33 a	0,128 *

BOKASHI

Biopreparado sólido obtenido por compostaje rápido aerobio de estiércol animal, restos vegetales tierra, carbón, cal, melaza, levadura. Presenta una alta población de actinobacterias y una gran diversidad tanto de hongos como de bacterias. No se detectaron coliformes fecales.



DESARROLLO DEL BIOINSECTICIDA CREBIO 3 CON AISLAMIENTO NATIVO DE METARHIZIUM ANISOPLEAE PARA EL CONTROL DE TRIPS (FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS) EN LECHUGA (LACTUCA SATIVA L.).

Ing. Agrónoma PhD. Alda Rodríguez dos Santos
 Batoví Instituto Orgánico - BIO Uruguay.
 Financiamiento: fondos de BIO Uruguay y apoyo de DIGEGRA/MGAP

cre BIO3 BIOINSECTICIDA

INTRODUCCIÓN

Los trips (*Frankliniella* sp. y *Trips* sp. /Thysanoptera: Thripidae) son plagas polífagas ampliamente distribuidas en hortalizas. Causan daños directos durante la alimentación y la oviposición, e indirectamente a través de la transmisión de virus.

En BIO Uruguay se asilan y evalúan cepas nativas de hongos entomopatógenos como alternativa para el control de trips. De estas se ha seleccionado una cepa de *Metarhizium anisopleae*, principio activo del producto llamado creBIO 3. Este producto representa una herramienta más para el control de esta plaga en sistemas productivos agroecológicos, en transición o de producción integrada.

METODOLOGÍA

- El ensayo de eficiencia técnica se llevó a cabo en un invernadero en cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). El invernáculo fue construido con plástico térmico de 120 micrones y sobre este una malla sombra de 50%.
- Se utilizó un diseño en bloques con cinco tratamientos y tres repeticiones.
- Las unidades experimentales estaban formadas de 5 plantas individuales en sus respectivas macetas, con una capacidad de 1 litro de suelo previamente esterilizado a 127 grados y 1 atm de presión. Al momento del trasplante, en el día de inicio del ensayo de eficiencia técnica las plántulas contaban con 3 semanas de vida y 5 hojas verdaderas.
- Las unidades experimentales correspondientes a los tratamientos 3 y 4 tuvieron una aplicación dirigida al suelo del ACMB creBIO 3, en una concentración de 1×10^9 esporas/g.
- A los 15 días de instalado el ensayo se procedió a inocular las unidades experimentales que correspondían a los tratamientos 2, 3, 4 y 5 con 1 hoja de lechuga y 1 hoja de morrón conteniendo una población mayor a 30 trips por hoja, las mismas se colocaron contra el suelo de la maceta.
- Luego de 7 días comenzaron las aplicaciones correspondientes mediante el uso de pulverizadora manual, dirigida al suelo y al follaje en cada tratamiento, los cuales se repitieron una vez por semana.

OTROS BENEFICIOS DEL CONTROL BIOLÓGICO

- capacidad de adaptación al medio luego de las aplicaciones
- aumento de la probabilidad de establecerse en el medio y adaptarse a las condiciones ambientales
- promover la regeneración de los agroecosistemas.

OBJETIVO

Evaluar la efectividad agronómica de las aplicaciones de creBIO 3 para el control de trips *Frankliniella* spp. y *Trips tabacci* (en cultivo lechuga)

RESULTADOS

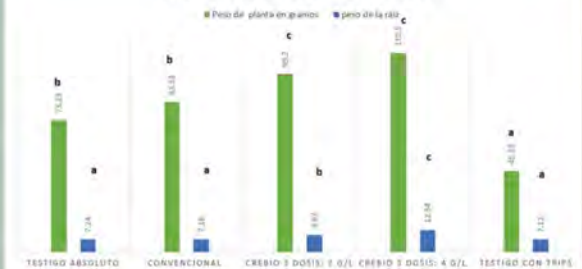
- Los tratamientos con creBIO 3 (en 2 y 4 gr/L) inhibieron la instalación de trips en el cultivo, evidenciando la capacidad de este producto para cortar el ciclo de plaga.
- Se corrobora el efecto insecticida de *M. anisopleae* sobre *Trips* sp. (en las dosis de 2 gr/ l sin diferencia con 4 gr/L), que se hace evidente y con diferencias altamente significativas con el testigo con inoculación de trips y sin control.
- Las diferencias entre los tratamientos testigo absoluto y convencional son altamente significativas respecto al uso de creBIO 3 en 2 gr/l y creBIO 3 4 gr/l y al testigo con inoculación de trips para la variable peso de raíces, mostrando la acción de *M. anisopleae* sobre el desarrollo de las raíces.
- Se observan los efectos de este agente de control biológico sobre el control de la plaga, en la instalación de la plaga en el cultivo y su efecto sobre el desarrollo del cultivo que se expresa en el peso de plantas y raíces.

En conclusión **los resultados de este experimento demuestran que cuando creBIO 3 es aplicado al suelo, se retrasa el desarrollo de poblaciones de trips y, si además se combina con aplicaciones foliares, esta se mantiene en bajos niveles. Se evidenciaron efectos sobre el desarrollo del cultivo y la productividad del mismo.**

MEDIA DE INDIVIDUOS POR HOJA



PESO MEDIO DE PLANTAS Y RAICES



CONTACTO

Ruta 31 km 211
 Sauce de Zaporá, Tacuarembó
 +598 98 683 940
 info@crebio.uy
 @crebio_
 www.biouruguayinternacional.com



DESARROLLO DEL BIOFUNGICIDA CREBIO 4 CON AISLAMIENTO NATIVO DE TRICHODERMA ASPERELLUM PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS DEL TOMATE (SOLANUM LYCOPERSICON).

Ing. Agrónoma PhD. Aída Rodríguez dos Santos

Batovi Instituto Orgánico - BIO Uruguay.

Financiamiento: fondos de BIO Uruguay y apoyo de DIGEGRA/MGAP

cre BIO4

BIOFUNGICIDA

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas sanitarios que afecta severamente al cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) y su rendimiento es causada por el moho gris, un hongo llamado *Botrytis cinerea*, que ataca flores, frutos, hojas y tallos. *Trichoderma asperellum* tiene excelentes características para comportarse como un buen agente de control biológico. Algunas de ellas son:

- habilidad de sobrevivir en condiciones desfavorables y variables
- elevada capacidad reproductiva
- capacidad de modificar la rizófora
- habilidad de competir con otros microorganismos
- eficiencia en el uso de nutrientes
- la promoción del crecimiento
- potenciación de la defensa de las plantas.

La estimulación de la defensa de la planta puede ser tanto frente a estrés de tipo biótico como abiótico. Sus modos de acción para el control de enfermedades son la competición por espacio, nutrientes, producción de antibióticos parasitismo e inducción sistémica. Esta polivalencia le confiere un amplio espectro de acción frente a diversos patógenos edáficos y foliares entre ellos *Botrytis cinerea*.

METODOLOGÍA

Se realizaron:

- Evaluaciones de antagonismo sobre fusarium (*Fusarium oxysporum*), botrytis (*Botrytis cinerea*), sclerotinia (*Sclerotinia sclerotium*) y cladosporium (*Cladosporium fulvum*).
- Evaluación de eficiencia técnica realizadas sobre *Botrytis* en tomate (*Solanum lycopersicon*) de invernadero.
- Identificación molecular mediante la coordinación con INIA, generación del dossier técnico requeridos por la autoridad competente de registro (DGSA/MGAP).
- Análisis toxicológicos del producto, etapa que contó con el apoyo de DIGEGRA/MGAP como parte de las acciones del FPTA 344, así como las validaciones que se realizaron en distintos puntos de producción hortícola del país.
- Se realizó un diseño en bloques con 5 tratamientos y 3 repeticiones. Las unidades experimentales estaban constituidas por un conjunto de 4 plantas.
- Los tratamientos se iniciaron el día 15/09/21, trasplantando a macetas de 3 litros de suelo esterilizado previamente en las cuales se trasplantaron plántulas de tomate variedad Cherry grande 1221 de 20 cms de longitud y 30 días de desarrollo.
- A partir de los tratamientos 3 y 4 se realizó una la aplicación dirigida al suelo de *Trichoderma asperellum* (CREBIO 4), en una concentración de 1×10^8 esporas/g.
- Al cabo de 7 días, después de la aplicación del agente de control biológico, se indujo la enfermedad en todas las unidades experimentales correspondientes a los tratamientos 2, 3, 4 y 5, con una aplicación dirigida al suelo y un inóculo activamente patogénico con concentración de 1×10^8 UFC/ml.
- El día 28/10 se iniciaron las aplicaciones de control del patógeno luego de revisar y ver síntomas de presencia del mismo en todos los tratamientos inoculados con el patógeno.

OTROS BENEFICIOS DEL CONTROL BIOLÓGICO

- capacidad de adaptación al medio luego de las aplicaciones
- aumento de la probabilidad de establecerse en el medio y adaptarse a las condiciones ambientales
- promover la regeneración de los agroecosistemas.

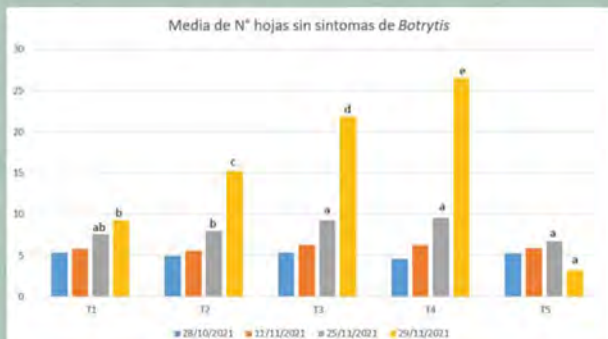
OBJETIVO

Evaluar la efectividad agronómica del Agente de Control Biológico Microbiano *Trichoderma asperellum* (CREBIO 4) para el control de *Botrytis* (*Botrytis cinerea*), en el cultivo de tomate, evaluando dos dosis de aplicación, como herramienta de control preventivo.

RESULTADOS

- Los resultados obtenidos corroboran el efecto antagónico.
- El tratamiento 4 (4 gr/l de CREBIO 4) mostró los mejores niveles de antagonismo evidentes por el mayor número de hojas sin síntomas de ataque del patógeno y estadísticamente diferentes a los restante tratamientos. Le siguió en efectividad el tratamiento 3 (2 gr/l de CREBIO 4) con diferencias significativas respecto al tratamiento 2 (control químico convencional) y al tratamiento 1 (testigo absoluto) y 5 (testigo con aplicación del patógeno).
- Las diferencias entre tratamientos son altamente significativas para el peso de raíces, número y peso de frutas, mostrando la acción de *T. asperellum* sobre el desarrollo de la planta, que determina indirectamente la vigorosidad.

En conclusión, en términos generales los resultados de las diferentes variables permiten afirmar que *Trichoderma asperellum* (CREBIO 4) muestra una muy alta eficiencia de control sobre *B. cinerea*, mostrando incluso efectos sobre el desarrollo del cultivo y la productividad del mismo.



CONTACTO

Ruta 31 km 211
Sauce de Zaporá, Tacuarembó
+598 98 683 940
info@crebio.uy
@crebio_
www.biouruguayinternacional.com



INTRODUCCIÓN

Perú, según ComexPerú (2020), posee el 14vo puesto, dentro de los países más biodiversos del mundo. Con condiciones agroecológicas óptimas para cultivar una gran variedad de especies vegetales. Por otro lado, una agricultura intensiva y empleo excesivo de pesticidas, provocan un desbalance ecológico, favoreciendo el desarrollo de múltiples plagas y enfermedades, destacando entre ellos los nematodos fitopatógenos, capaces de provocar pérdidas económicas importantes.

MATERIALES Y METODOS

En la presente investigación, se seleccionaron las cepas: *B. subtilis* P1(11), *B. sonorensis* P1(12), *R. radiobacter* VSP7(4), VSP2, VSP9, VSP8, principalmente por su caracterización fisiológica y actividad nematocida sobre Huevos y Juveniles 2 (J2) de *Meloidogyne* sp. Las cepas se enfrentaron al 0.1% en volumen, simulando una condición de aplicación en campo, todas las cepas fueron caracterizadas molecularmente por Malditof.

Figura N°1: Fase de aislamiento y caracterización, e identificación de bacterias endófitas

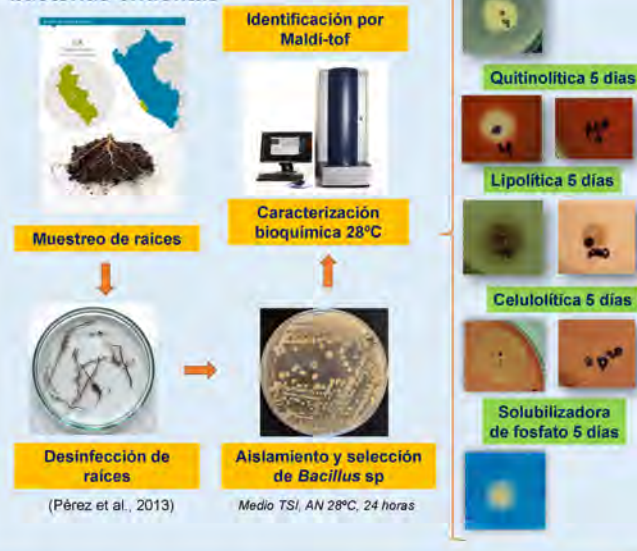


Tabla N°1: Caracterización de actividad fisiológica de cepas nativas aisladas de Vid y Páprika, en Ica, Perú.

TRAT.	Especies	Cultivo	Proteasas	Quitinasas	Celulasas	Lipasas	Sol. Fosfato
P1(12)	<i>B. sonorensis</i>	Paprika	+	++	++	+	-
P1(11)	<i>B. subtilis</i>	Paprika	-	-	++	+	-
VO1 (1)	<i>B. subtilis</i>	Vid	-	-	-	-	-
VSP7(4)	<i>B. radiobacter</i>	Vid	+	-	+	+	-
VSP2	UAG	Vid	+	-	-	+	+
VSP9	UAG	Vid	+	+	+	+	+
VSP8	UAG	Vid	+	+	+	+	+
VOO22	Control		-	+	+	+	-
Serratia	Control		-	-	-	+	-
AZO	Control		-	-	-	-	+

El 30% de especies caracterizadas presentaron 5 caracteres bioquímicos, correspondiendo al cultivo de vid, mientras que dos especies de *Bacillus* sp. presentaron de dos a cuatro caracteres bioquímicos, siendo procedentes de paprika. (Pérez et al., 2013)

Figura N°2: Fase de cultivo y enfrentamiento con J2 y huevos de *Meloidogyne* sp.



Tabla N°2: Actividad nematocida sobre J2 y huevos de *Meloidogyne* sp, respectivamente.

TRAT.	Especies	Cultivo	Concentración	% de Mortandad J2		% de Inhibición Huevos	
				Biomasa	Metabolitos	Biomasa	Metabolitos
P1(12)	<i>B. sonorensis</i>	Paprika	0.10%	4	39	14	0
P1(11)	<i>B. subtilis</i>	Paprika	0.10%	27	40	3	0
VO1 (1)	<i>B. subtilis</i>	Vid	0.10%	0	3	0	0
VSP7(4)	<i>B. radiobacter</i>	Vid	0.10%	0	17	39	0
VSP2	UAG	Vid	0.10%	0	0	55	0
VSP9	UAG	Vid	0.10%	0	0	62	3
VSP8	UAG	Vid	0.10%	84	42	0	0
FVOO22	Control		0.10%	0	0	96	0
Serratia	Control		0.10%	0	0	51	0

B. sonorensis, se caracterizó por presentar una mediana actividad sobre J2 en forma de metabolitos y sobre huevos en forma de Biomasa, mientras que *B. subtilis* presentó únicamente actividad sobre J2 en forma de biomasa y metabolitos. Finalmente la especie que mostró un mayor efecto sobre huevos fue *R. radiobacter* en forma de biomasa, mientras que la cepa VSP8, presentó su máxima actividad sobre J2 en forma de biomasa.

CONCLUSIONES

Se reportaron cepas que pueden ser efectivos sobre J2, mientras que otros, principalmente sobre huevos. Resultados como los obtenidos, hacen notar la especificidad del mecanismo de acción de las bacterias endófitas, con potencial acción sobre los dos estadios de *Meloidogyne* sp, concluyendo que la mejor estrategia de control podría ser probablemente mediante la aplicación de un consorcio de dos a tres bacterias endófitas, dentro de un manejo sustentable del cultivo de uva.

Agradecimiento: Proyecto N° 177-2015-Fondecyt-BM y Proyecto N° 007-2020-Fondecyt-BM

Claudia Barlocco^{1*}, Maria Mayans², Mariana Mortalena¹, Valeria López¹ y Elena Beyhaut¹

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Programa de Producción y Sustentabilidad Ambiental, Plataforma de Bioinsumos, Laboratorio de Microbiología de Suelos, Estación Experimental INIA Las Brujas, Ruta 48 km 10, 90200 Canelones, Uruguay

²Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP). Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSA). Millán 4703 Montevideo, Uruguay

*cbarlocco@inia.org.uy

Uruguay inició en la década de los sesenta, el desarrollo de tecnología para elaborar inoculantes de alta calidad para leguminosas, que fueron ampliamente adoptados por el sector productivo. La legislación sobre inoculantes en base a rizobios se basó en dos principios: (1) el reconocimiento de la importancia de la calidad de los inoculantes en la implantación y productividad de las leguminosas forrajeras y de grano, y (2) la preservación de la diversidad microbiana del suelo al autorizar sólo la introducción de cepas debidamente evaluadas. Anualmente, la soja y las leguminosas forrajeras inoculadas con rizobios aportan nitrógeno proveniente de la atmósfera por un valor estimado de 450 millones de dólares, demostrando la relevancia de esta tecnología, tanto por la reducción de costos, como por la disminución del impacto ambiental negativo asociado al uso de fertilizantes de síntesis. El país se plantea el desafío de desarrollar cadenas de valor agroalimentarias ambientalmente sustentables, y ha creado para ello plataformas científico-tecnológicas que permiten garantizar altos estándares de calidad. En este marco, a través de un convenio firmado en el 2012 se consolidó la cooperación interinstitucional del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) y el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), modernizando el sistema de fiscalización de la producción y comercialización de inoculantes, y dando continuidad al sistema de registro y control de calidad de estos bioinsumos. En los últimos años, se amplió el marco normativo a MPCV dando lugar al registro de inoculantes formulados en base a *Pseudomonas*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum*, *Bacillus* y hongos micorrícicos.



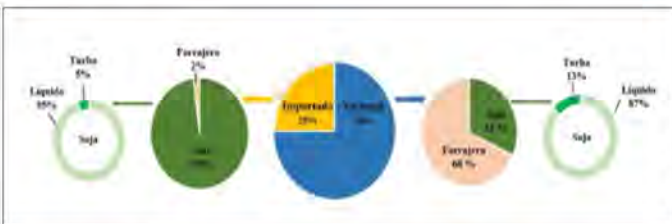
INOCULANTES RIZOBIANOS – ANALISIS DE LOTES PRODUCIDOS

Exigencias del MGAP para cada lote de inoculante:

- Concentración de células vivas mayor a 2×10^9 por ml o gr de soporte (Recuento en placa en medio EMA)
- Soporte estéril y libre de contaminantes (Pureza en medio TSA y AS)
- Contener cepas autorizadas y suministradas por la MGAP (Identificación genética por BOX-PCR)



Durante el periodo 2013-2021 se analizaron un total de 1420 lotes de inoculantes, correspondiendo al total de lo formulado por la industria nacional y lo importado, esto representa un promedio de 158 lotes analizados por año.



Lotes importados: 98% de los lotes son para el cultivo de soja, las formulaciones líquido acuosas representan un 95% y el 5% restante es en base a turba estéril. Los inoculantes para leguminosas forrajeras en turba representan un 2%, habiendo ingresado únicamente para alfalfa entre 2013 y 2016. Lotes nacionales: 68% de lo comercializado son para leguminosas forrajeras y 32% para soja, correspondiendo para este cultivo un 87% de inoculantes líquidos

El 85% de los lotes obtuvieron resultados conformes y fueron considerados aptos para su comercialización. El 15% restante fue rechazado debido a baja concentración y/o presencia de contaminantes. El 50% de los lotes rechazados presentaron contaminantes y baja concentración, siendo en su totalidad formulaciones en soporte turba.

REGISTROS DE INOCULANTES

Exigencias del MGAP para registrar inoculantes rizobianos:

- Concentración de células vivas mayor a 2×10^9 por ml o gr de soporte a la fecha de elaboración y de 1×10^9 por ml o gr de soporte a la fecha de vencimiento del producto (6 meses)
- Soporte estéril y libre de contaminantes
- Todos los inoculantes comercializados en el territorio nacional deben contener únicamente cepas autorizadas y suministradas por la DGSA-MGAP.



Exigencias del MGAP para registros de inoculantes formulados con MPCV:

- Concentración declarada deberá ser demostrada por la eficacia agronómica en condiciones de campo
- Elaborados en soporte estéril y libres de microorganismos no declarados
- Garantizar la inocuidad del/los microorganismos en cuanto a la salud humana, animal, vegetal y el medio ambiente
- Estar sustentados en ensayos de eficacia agronómica realizados en el país en el cultivo declarado.

Marca	Origen	Soporte	Cultivo	Cepa
GRAMINOSOIL	Nacional	Líquido	Maíz, Sorgo, Trigo, Cebada	Az 39+CFN535 <i>Azospirillum brasilense</i>
BIOPROM	Nacional	Líquido	Maíz, Trigo	Az 39 <i>Azospirillum brasilense</i>
NITRAGIN MAIZ	Importado	Líquido	Maíz	Az 39 <i>Azospirillum brasilense</i>
RIZOFOS LIQ SORGO	Importado	Líquido	Sorgo	Rasa 1008 <i>Pseudomonas fluorescens</i>
RIZOFOS LIQ MAIZ	Importado	Líquido	Maíz	Rasa 1008 <i>Pseudomonas fluorescens</i>
RIZOFOS LIQ TRIGO	Importado	Líquido	Trigo	Rasa 1008 <i>Pseudomonas fluorescens</i>
ENDORICE	Nacional	Líquido	Arroz	L 4.2 <i>Herbaspirillum huttiense</i>
NITRAGIN WAVE	Importado	Líquido	Trigo	Az 39 <i>Azospirillum brasilense</i>
RIZOFOS LIQ SOJA	Importado	Líquido	Soja	Rasa 1008 <i>Pseudomonas fluorescens</i>
NOD A	Importado	Líquido	Maíz	AbV5+AbV6 <i>Azospirillum brasilense</i>
RISE P	Importado	Polvo mojado	Morrón, Tomate, Soja	IT-45 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>

El sistema uruguayo de fiscalización de inoculantes proporciona un modelo para la concreción de tecnologías para la agricultura basadas en el uso de microorganismos. El éxito está condicionado a un fuerte compromiso de políticas de Estado para la investigación y la armonización del marco normativo asociadas a políticas de educación y extensión para la adopción adecuada de insumos biológicos

2º SIMPOSIO MICROORGANISMOS PARA LA AGRICULTURA

AUSPICIAN



APOYAN



**DECLARADO DE INTERES MINISTERIAL
POR EL MINISTERIO DE GANADERIA AGRICULTURA Y PESCA**



Ministerio
**de Ganadería,
Agricultura y Pesca**



INIA Las Brujas
Tel: (+598) 2367 7641
Ruta 48 Km. 10
Rincón del Colorado | Canelones



inia.uy