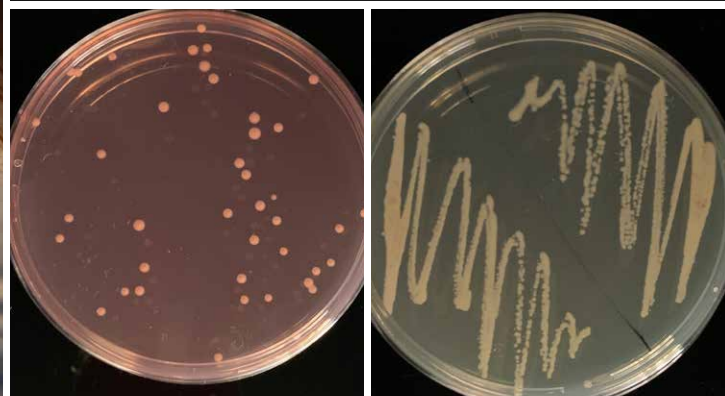
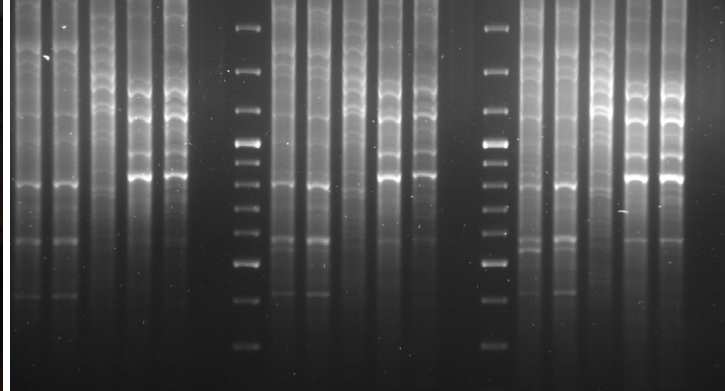




Fotos: Mariana Mortalena e Irvin Rodríguez



SISTEMA URUGUAYO DE FISCALIZACIÓN DE INOCULANTES

Lic. Bioq. Mag. Claudia Barlocco¹,
 Lic Bioq. María Mayans²,
 Téc. Quím. Mariana Mortalena¹,
 Téc. Quím. Lic. Anal. Alim. Valeria López¹,
 Ing. Agr. MSc. PhD. Elena Beyhaut¹

¹Área de Mejoramiento Genético y Biotecnología Vegetal. Bioinsumos. Laboratorio de Microbiología de Suelos - INIA

²Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSA) - MGAP

¹Igual contribución en el trabajo

Este artículo pone el foco en el trabajo que vincula al MGAP, a INIA y al sector privado combinando capacidades para el funcionamiento del sistema nacional de registro y control de calidad de inoculantes. Se presentan los principales aspectos de la evolución de la normativa, las contribuciones de las partes y los principales resultados de esta herramienta colaborativa.

LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO EN LA POLÍTICA DE ESTADO

En la década de los 60, Uruguay inició una política de Estado promoviendo la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) en leguminosas como alternativa al uso de fertilizantes nitrogenados de síntesis. Esta decisión estratégica permitió implementar el sistema nacional de registro y control de calidad de inoculantes para

leguminosas, un antecedente de trabajo coordinado del sector público y privado que hizo posible la producción nacional de inoculantes de alta calidad (Altier *et al.*, 2013) (Figura 1). Desde entonces, los inoculantes han tenido amplia adopción por parte del sector productivo, y el éxito de esta biotecnología ha aparejado importantes beneficios económicos, ambientales y sociales para el país por más de cinco décadas. A nivel país, cada año las pasturas y la soja inoculadas con rizobios realizan

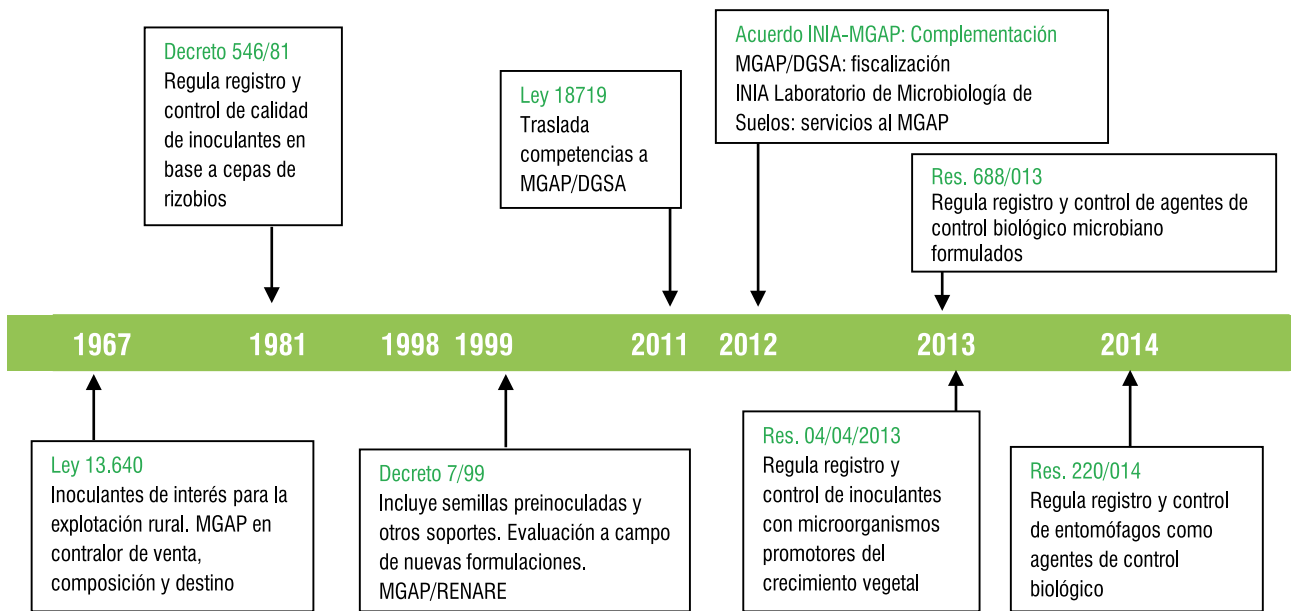


Figura 1 - Evolución de la Normativa Uruguaya para Registro y Control de Inoculantes. Referencias: MGAP: Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. DGSA: Dirección General de Servicios Agrícolas. RENARE: Recursos Naturales Renovables (Fuente: MGAP).

un aporte de Nitrógeno (N) proveniente de la atmósfera que puede estimarse en un valor que supera los 450 millones de dólares. 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.

Más recientemente, en el año 2012, INIA y el MGAP firmaron un convenio donde acuerdan combinar capacidades para dar continuidad al sistema nacional de registro y control de calidad de inoculantes. El MGAP continúa con la fiscalización de la elaboración y comercialización de los inoculantes e INIA proporciona los servicios de análisis de éstos y realiza la curaduría de la Colección Nacional de Cepas de Rizobios, suministrando las cepas recomendadas oficialmente a las empresas formuladoras de inoculantes. La implementación de este acuerdo implicó la creación de una plataforma que vincula al MGAP, a INIA y al sector privado, permitiendo dar seguimiento del proceso. Este sistema gestiona la información sobre las muestras extraídas a cada lote (producto de una misma fermentación), nacional o importada, así como los resultados de laboratorio, emitiendo las autorizaciones de comercialización y publicando la información sobre las partidas autorizadas. Asimismo, en ese sitio web se accede al listado de inoculantes registrados, los lotes autorizados para la venta en cada zafra, los protocolos técnicos, los formularios y los comunicados oficiales.

SISTEMA DE REGISTRO Y CONTROL DE CALIDAD DE INOCULANTES

El registro es el proceso mediante el cual se autoriza la fabricación, formulación, liberación, comercialización y uso de un producto biológico formulado, evaluación que demuestre que es eficaz para el fin que se destina y análisis de riesgo respecto a la salud humana, animal, vegetal y/o del medio ambiente. Junto con los inoculantes tradicionales en base a turba estéril y las formulaciones líquidas, la legislación incluye a las semillas preinoculadas.

Los requisitos administrativos exigen que las personas físicas o jurídicas que efectúen la solicitud de registro estén inscriptas en el Registro Único de Operadores (RUO) administrado por la DGSA, debiéndose designar un responsable técnico, completar el formulario de registro correspondiente disponible en la web y adjuntar un “proyecto de etiqueta”.

Los inoculantes generan importantes beneficios económicos, ambientales y sociales para nuestro país.

Acceda **AQUÍ**

<p>TURBA</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Identidad de cepas (recomendadas y entregadas por MGAP) • Viabilidad en el soporte cada 30 días por un periodo de 6 meses: concentración elaboración 2×10^9 UFC/g y vencimiento 1×10^9 UFC/g • Libre de contaminantes
<p>LÍQUIDO</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Idem turba • A los 90 y 180 días de validez del inoculante: capacidad infectiva por NMP y nodulación y PSPA vs. turba en condiciones controladas • EEA en campo: parámetros de nodulación y rendimiento
<p>SEMILLA PREINOCULADA y NUEVAS TECNOLOGÍAS</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Inoculante y curasemilla registrados • Identidad de cepas (recomendadas y entregadas por MGAP) • Cada 7 días: recuperación de rizobios viables en semilla $> 10^3$, 10^4 y 10^5 UFC/semilla según tamaño de semilla, capacidad infectiva por NMP y nodulación y PSPA vs. turba en condiciones controladas • EEA en campo: parámetros de nodulación y rendimiento

Figura 2 - Ensayos requeridos para el registro de inoculantes según tipo de soporte. EEA: ensayos de eficacia agronómica. NMP: Número más probable. PSPA: Peso seco parte aérea.

Los requisitos técnicos del registro se verifican en ensayos de laboratorio, en cámara de crecimiento con condiciones controladas y campo que se describen en la Figura 2.

Se prohíbe la venta de inoculantes y semillas preinoculadas que no estén previamente registradas y aprobadas por el MGAP.

Complementando al registro, el control de calidad es una herramienta necesaria para garantizar la calidad de los inoculantes que se ofrecen en el mercado. Cada lote de inoculante que se formula en el país o se importa es objeto de un control de calidad antes de ser liberado para la comercialización, en el que se verifica: (1) la concentración de rizobios viables ($> 2 \times 10^9$ UFC/ml o g), (2) la ausencia de microorganismos contaminantes (pureza) y (3) la identificación molecular de la/s cepa/s contenida/s.

Desde el 2018 el Laboratorio de Microbiología de Suelos de INIA mantiene la acreditación por la Norma ISO/IEC 17025 de los tres ensayos de control de calidad de inoculantes a base de rizobios. La acreditación otorgada por el Organismo Uruguayo de Acreditación (OUA) garantiza al usuario la fiabilidad de resultados analíticos, aplicando procedimientos estandarizados de aceptación internacional y trabajando con personal competente y capacitado a tales fines, en un ámbito de imparcialidad y objetividad.

Una vez liberados los lotes al mercado, la DGSA a través del Departamento de Fiscalización inspecciona los puntos de venta de insumos agrícolas verificando que

todos cuenten con registro vigente, etiqueta aprobada, fecha de vencimiento y condiciones de almacenamiento acorde a lo autorizado.

RESULTADOS DEL SISTEMA EN LA ÚLTIMA DÉCADA

En la actualidad existen un total de 55 inoculantes registrados provenientes de 11 empresas formuladoras. 25 registros corresponden a inoculantes líquidos para soja, siendo el 80 % importados. Los inoculantes en base a turba son 27, dentro de los cuales el 93 % son de origen nacional, todos para leguminosas forrajeras, y el 7 % restante son inoculantes para soja. Los registros para semillas preinoculadas son 3, todos para el cultivo de soja. Los tiempos de espera van de 26 a 35 días dependiendo del inoculante y del curasemilla utilizado.

En 2018 el Laboratorio de Microbiología de Suelos de INIA recibió la acreditación por la Norma ISO/IEC 17025 de los tres ensayos de control de calidad de inoculantes a base de rizobios.

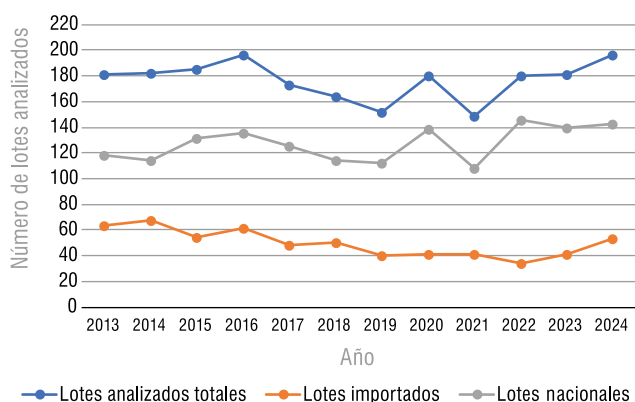


Figura 3 - Control de calidad de lotes de inoculantes durante el periodo 2013-2024 (Fuente: MGAP).

Durante el periodo 2013-2024 se analizaron un total de 2.119 lotes de inoculantes, que corresponden al total de lo formulado por la industria nacional y lo importado, esto representa un promedio de 192 lotes analizados por año (Figura 3). El 99,6 % de los lotes importados son para el cultivo de soja, formulados con las cepas recomendadas para Uruguay (U-1301 y U-1302 de *Bradyrhizobium elkanii*). Las formulaciones líquido acuosas representan un 92 % y el 8 % restante es en base a turba estéril. Los inoculantes para leguminosas forrajeras en turba representan un 0,4 % de las importaciones, habiendo ingresado únicamente para alfalfa, trébol y lotus entre 2013 y 2016]. La industria nacional produce un 72 % de lo comercializado

incluyendo inoculantes para leguminosas forrajeras (70 %) y para soja (30 %), correspondiendo para este cultivo un 65 % de inoculantes líquidos (Figura 4).

Del total de los lotes analizados (2119) el 78,5 % obtuvieron resultados conformes con las exigencias y fueron considerados aptos para su comercialización. El 21,5 % 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. Se observó que existe una relación entre la presencia de contaminantes y los bajos recuentos (menores que los admitidos por la legislación) y se destaca la estrecha relación que hay entre los altos recuentos y la ausencia de contaminantes en los inoculantes líquidos.

INOCULANTES FORMULADOS CON BACTERIAS NO RIZOBIOS

Acompañando las tendencias mundiales de producción de alimentos hacia la reducción del uso de fertilizantes químicos, así como a la explotación racional y conservacionista de los recursos naturales, el mercado de inoculantes se ha ampliado incluyendo el uso de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal (MPCV). Los inoculantes formulados con MPCV no pueden evaluarse bajo las mismas condiciones aplicables a los inoculantes rizobianos, siendo necesario contar con un marco regulatorio específico que abarque la variedad de géneros y especies y considere aspectos vinculados al riesgo toxicológico y ecotoxicológico.

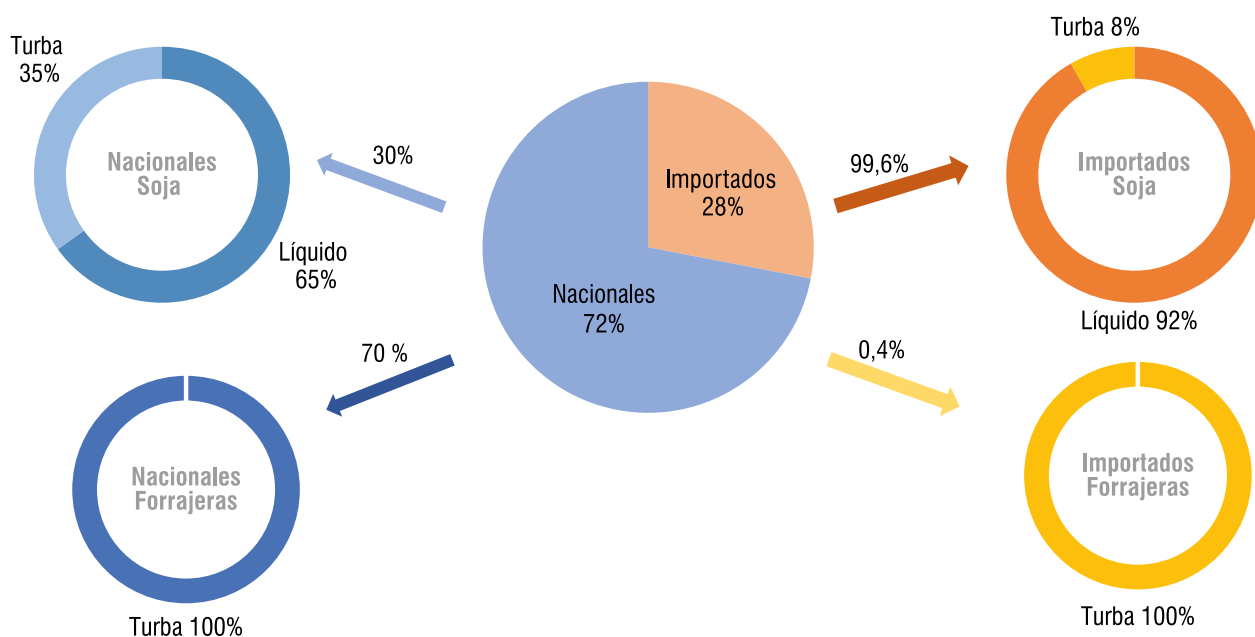


Figura 4 - Porcentajes de lotes de inoculantes según origen y soporte (Fuente: MGAP).

En el año 2013 la DGSA-MGAP puso en vigencia la Resolución N° 04/13 donde se estipulan las exigencias técnicas para el registro de inoculantes formulados con MPCV. En esta normativa quedan comprendidos los inoculantes que contengan una o más cepas de MPCV cuantificables e identificables, y que las mismas tengan demostrado *in vitro* alguno de los mecanismos directos que promueven el crecimiento vegetal o favorecen el aprovechamiento de los nutrientes en asociación con cultivos de interés agronómico. Las evaluaciones para el registro incluyen recuentos cada 30 días para determinar la estabilidad en el tiempo (hasta que los valores de concentración estén por debajo de lo declarado por el fabricante), pureza, identificación del o los microorganismos y ensayos de eficacia agronómica.

Los protocolos aplicados están basados en la Red de Control de Calidad de Inoculantes (REDCAI) (Albanesi *et al.*, 2013). El registro de los inoculantes formulados con MPCV se autoriza si cumplen con los siguientes requisitos técnicos: 1) la concentración declarada deberá demostrar la eficacia agronómica en condiciones de campo; 2) ser elaborados en soporte estéril y libres de microorganismos no declarados; 3) deben garantizar la inocuidad del o los microorganismos en cuanto a la salud humana, animal, vegetal y el medio ambiente; y 4) estar sustentados en ensayos de eficacia agronómica realizados en el país y en el cultivo declarado. Actualmente hay registrados 15 inoculantes, cinco nacionales y 10 importados, formulados en base a *Pseudomonas*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Delftia*, y se encuentran en proceso inoculantes formulados con hongos micorrízicos.

CONCLUSIONES

El sistema uruguayo de fiscalización de inoculantes proporciona un modelo para la concreción de

Como aspectos clave para el buen desempeño de este sistema se destacan las fortalezas técnico-científicas acompañadas del respaldo político en el largo plazo.

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. Las capacidades instaladas en plataformas de trabajo integran laboratorios y grupos de investigación que desarrollan líneas estratégicas conjugando áreas de conocimiento y nuevos abordajes. Este concepto trasciende el espacio físico institucional y es de alcance regional e internacional. Se destacan los aspectos clave para el funcionamiento de este sistema en forma coordinada y armónica: las fortalezas técnico-científicas acompañadas del respaldo político en el largo plazo.

BIBLIOGRAFÍA

Albanesi, A., Benitende, S., Cassan, F y Peticari, A. (2013). Manual de procedimientos microbiológicos para la evaluación de Inoculantes. Publicación de la Red Nacional de Control de Calidad de Inoculantes de la División Agrícola y Ambiental de la Asociación Argentina de Microbiología. ISBN 978-987-26716-4-8.

Altier N., Beyhaut E., Pérez C.A. (2013). Root Nodule and Rhizosphere Bacteria for Forage Legume Growth Promotion and Disease Management. En: *Bacteriain Agrobiology: Crop Productivity*. p.167-184, Maheshwari, Dinesh K.; Saraf, Meenu; Aeron, Abhinav (Eds.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.



Figura 5 - Ensayo de invernáculo.

Foto: Mariana Mortalena