



El nitrógeno es un elemento esencial para el crecimiento y la nutrición, y frecuentemente es un factor limitante para la producción de las cosechas.

La capacidad de los microorganismos para enriquecer el suelo fijando dinitrógeno atmosférico, ofrece una alternativa singularmente importante en áreas donde el nitrógeno, como fertilizante, es poco accesible. Muchos trabajos publicados han demostrado la fijación de 10 a 20 miligramos de nitrógeno por cada 100 gramos de suelo (1).

En una revisión realizada por Moore en 1966 (2), sobre fijadores de dinitrógeno no simbiótico, llega a la conclusión que la magnitud de nitrógeno fijado es de importancia agronómica.

En esta revisión se destaca el rol del sistema radicular de las plantas en la fijación no simbiótica del nitrógeno del suelo.

Desde Dobereiner y Day (3), se encontraron alta actividad nitrogenasa en la raíz de gramíneas tropicales y establecieron que el *Azospirillum* sp., es responsable de la fijación de nitrógeno, se aumentó la atención de los investigadores en lograr una simbiosis asociativa entre las cepas de este germen y la raíz de las distintas especies de la familia botánica gramíneas.

Hay numerosos trabajos que establecieron que la fijación asociativa de dinitrógeno ocurre en la rizosfera del arroz (4-5-6), gramíneas tropicales (7-8-9), caña de azúcar (7-11), maíz (12-13), trigo (14-15-16-17-18) y otras plantas dicotiledóneas (19).

También se ha demostrado en estos trabajos, que el número de bacterias que viven recubriendo y/o en el interior de la raíz, es muchas veces mayor que el número de las que viven en el suelo a pequeña distancia del sistema radicular. Estas bacterias utilizan los exudados ricos en hidratos de carbono de la raíz, como fuente de energía indispensable para su desarrollo. De tal manera que los factores que regulan los exudados de la raíz (auxinas y citoquininas, entre otros), determinan las características de la microflora de la rizosfera (20).

Los experimentos en que se utilizaron distintas cepas de *Azospirillum* sp., demostraron la íntima asociación del germen a la raíz (la actividad dinitrogenasa de la raíz persiste luego de numerosos lavados de la misma) y la asociación específica entre una cepa determinada y una gramínea determinada. Las citoquininas son sustancias de gran importancia como reguladores del crecimiento de la planta. Las citoquininas se dividen en dos grupos fundamentales: las que están unidas a moléculas de ARN de transferencia y las que se liberan del medio.

Muchos microorganismos liberan citoquininas, especialmente aquellos que forman simbiosis en las plantas. Las citoquininas aumentan la división celular, la síntesis de ADN, el metabolismo celular y la velocidad de intercambio de iones y metabolitos a través de la raíz (21-22).

El objetivo de este trabajo fue el de lograr un producto que permitiera:

- 1) La supervivencia de un número elevado de colonias (mayor a 10^8 por gramo de inóculo) por un lapso mayor a 6 meses;
- 2) Determinar la especificidad de cada cepa de Azospirillum por cada gramínea considerada (trigo, maíz, sorgo, festuca, etc.);
- 3) Conseguir un excipiente con gran poder de absorción a la semilla, que asegure la proximidad del inóculo a la rizosfera;
- 4) Un medio de cultivo adecuado para el germen con micronutrientes, algunos de los cuales actúan como cofactores de la nitrogenasa del Azospirillum;
- 5) Incorporar los oligoelementos en forma de quelatos para asegurar su efectivo aprovechamiento, y para ello se utilizó aminoácidos con esta propiedad;
- 6) Citoquininas que aumenten el desarrollo y tengan un efecto selectivo sobre la flora de la rizosfera.

Los resultados experimentales realizados en bioterio y a campo en Santa Teresa y Alcorta (Provincia de Santa Fe) y en las Estaciones Experimentales del I.N.T.A. de Marcos Juárez (Provincia de Córdoba) y Pergamino y Castelar (Provincia de Buenos Aires), demostraron:

- a) El número de Azospirillum en la rizosfera de las plantas era del orden del 10^8 mayor que las no fertilizadas;
- b) El nitrógeno total de la planta aumentó un 15% y el del suelo 11 miligramos por cada 100 gramos de suelo;
- c) El aumento de producción se verificó en más del 90% de los ensayos, un promedio superior al 25%. En forrajeras mayor al 75% en peso seco;

Estos resultados son el promedio de numerosas experiencias efectuadas con testigos simultáneos. Se realizó el estudio de la varianza de las muestras y se determinó el significado estadístico entre testigos y fertilizados con análisis de varianza, multifactorial y test de t.

Consideramos que el producto posee las siguientes ventajas:

- a) Adecuado aporte de nitrógeno aprovechable, que en casos de suelos a pH alrededor de 7, puede ser de 60 a 100 Kg./Ha.;
- b) Menor costo de aplicación, ya que se incorpora a la semilla;
- c) Aumento de la flora de Azospirillum en suelos inoculados en forma repetida;
- d) Menor crecimiento de malezas, ya que la fijación de nitrógeno ocurre en forma localizada y no en todo el lote.

El Fertilizante Biológico Ray Green Trigo viene formulado con un azospirillum brasilensis (1003 registrado en ATCC) que posee las características de alta actividad de la nitrogenasa y producción de citokininas y auxinas.

También se han incorporado brassino esteroides obtenidos en forma natural y macro y micro nutrientes (nitratos, fosfatos, potasio, cobre, zinc, boro, molibdeno, cobalto, magnesio, manganeso, sulfatos) factores de crecimiento (piridoxina, tiamina, cianocobalamina, ácido nicotínico, ácido málico y succínico) que favorecen el desarrollo de los tejidos meristemáticos, granos, área foliar y resistencia a patógenos. Hemos realizado numerosos experimentos oficiales a campo (INTA Castelar, Universidad de Lomas de Zamora, INTA Pergamino, SENASA) con distintas variedades e híbridos, observándose resultados similares a los lotes fertilizados con urea o fosfato.