

## **Tasas de crecimiento y tiempo de duplicación de 17 Ecotipos de Azolla, colectadas en México**

ELVIRA-ESPINOSA, Antonio, QUINTERO-LIZAOLA, Roberto, TRINIDAD-SANTOS, Antonio y LEYVA-RUELAS, Gabriel

A. Elvira, R. Quintero, A. Trinidad y G. Leyva

^ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo Km 36.5 carretera México-Texcoco 56230 Montecillo, Estado de México.

antonio.elvira@colpos.mx

F. Rérez, E. Figueroa, L. Godínez, J. Quiroz y R. García (eds.) Química, Biología y Agronomía. Handbook T-I. - ©ECORFAN, Texcoco de Mora-México, 2016.

## Abstract

This research underwent seventeen *Azolla* ecotypes collected in the Mexican Republic to observe the increase in biomass under the same conditions, were measured variables, average absolute growth rate (AAGR), average rate of crop growth (ARCG), average relative growth rate (ARGR), and doubling time (DT). The biomass increase, as to the AAGR and ARCG, It was better in the ecotype Jiutepec (Ji), with  $1.2 \text{ g días}^{-1}$  and  $76 \text{ gm}^{-2}\text{día}^{-1}$  respectively ARCG and DT, ecotype was the most outstanding Chignahuapan (Ch), with  $0.175 \text{ g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$  and 3 days in the DT, the range was from 3 days to 6 days in all species.

## 4 Introducción

*Azolla* Lam. Es un helecho flotante de agua dulce, que en la actualidad se encuentra en climas templados y tropicales alrededor de todo el mundo, este helecho es utilizado principalmente en agriculturas tropicales como biofertilizante en los arrozales, como es el caso del sudeste de Asia (IRRI, 1992), también es empleado para la alimentación de animales de corral, como aves, vacas, cerdos y peces, así como para mejorar las condiciones de suelo pobres de nutrientes (Kiguli, 2000).

Debido al alto contenido de proteína de *Azolla* que puede ir desde 13 a 30 % dependiendo la especie, junto con su alta palatabilidad y su facilidad de suministro, hace ideal para alimentación animal (Quintero, 2000). Por hectárea de *Azolla* es capaz de producir de 1 a 2 toneladas de forraje fresco por día, equivalente a 10 – 30 Kg de proteína por día, por su alta capacidad de crecer en forma simbiótica con la cianobacteria *Anabaena azollae* (Peters, *et al.*, 1989). El hospedero *Azolla*, este contiene los pigmentos fotosintéticos clorofila a, clorofila b y carotenoides asociados a los cloroplastos; mientras que los filamentos de *Anabaena* presentan clorofila a, ficobiliproteínas y carotenoides (Mosquera y calderón, 2002). La suma de estos pigmentos fotosintéticos principales y accesiones, permite al organismo simbiótico aprovechar más la energía luminosa. Esta característica es una de las responsables del rápido crecimiento y la acumulación de biomasa en poco tiempo.

Este helecho puede tener un tiempo de duplicación de aproximadamente de cinco días, bajo condiciones favorables como radiación, temperatura, pH, conductividad eléctrica, porcentajes bajos de nitrógeno y altos en fosforo, por lo general es el elemento que obstaculiza su crecimiento. Peters (1980), menciona que como planta acuática de flotación libre, se reproduce vegetativamente por fragmentación y tiene la capacidad de mantener una tasa de crecimiento exponencial y TMCR de  $0.355$  a  $0.390 \text{ g g día}^{-1}$ . Productividad de la biomasa depende del tiempo de duplicación así como la tasa de crecimiento absoluto, tasa de crecimiento del cultivo y tasa de crecimiento relativo y para su eficiencia biofertilizante.

Por otro lado la cianobacteria tiene la facultad de fijar nitrógeno para sí misma y para el helecho, mientras que *Azolla* le proporciona protección y una fuente segura de carbono (Wagner, 1997). La fijación de nitrógeno atmosférico, puede llegar a  $0.25$  kilogramos de nitrógeno por  $\text{m}^2 \text{ día}^{-1}$  ( $91.25 \text{ kg año}^{-1}$ ), lo cual implica una reducción anual de  $1,5 \text{ kg m}^2$  de carbono (Belnap, 2002).

En este contexto se enmarca la utilización y potenciación del helecho acuático *Azolla* como biofertilizante en la agricultura para conservar y mejorar la fertilidad del suelo, así como para alimentación animal debido al incremento desmedido de la población mundial y la escasez más frecuente de combustibles fósiles para fabricar fertilizantes nitrogenados hacen necesario voltear nuestra mirada hacia estas alternativas biológicas de bajo costo y nada contaminantes por ello es necesario investigar más sobre el helecho que nos permita aprovechar los ecotipos que se encuentran en nuestro país y aprovecharlos eficientemente de acuerdo al uso que se les pretenda dar con fines productivos ya sean agrícolas o pecuarios.

#### 4.1 Materiales y métodos

El trabajo de investigación fue realizado en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo en el Postgrado de Edafología. Los 17 ecotipos de *Azolla* (cuadro 1), provinieron de la colección de Germoplasma (*Azollatum* Alfredo Echegary Aleman), con réplica de la colección de Germoplasmas de biofertilizantes en IRRI (International Rice Research Institute), en los Baños-Manila Filipinas.

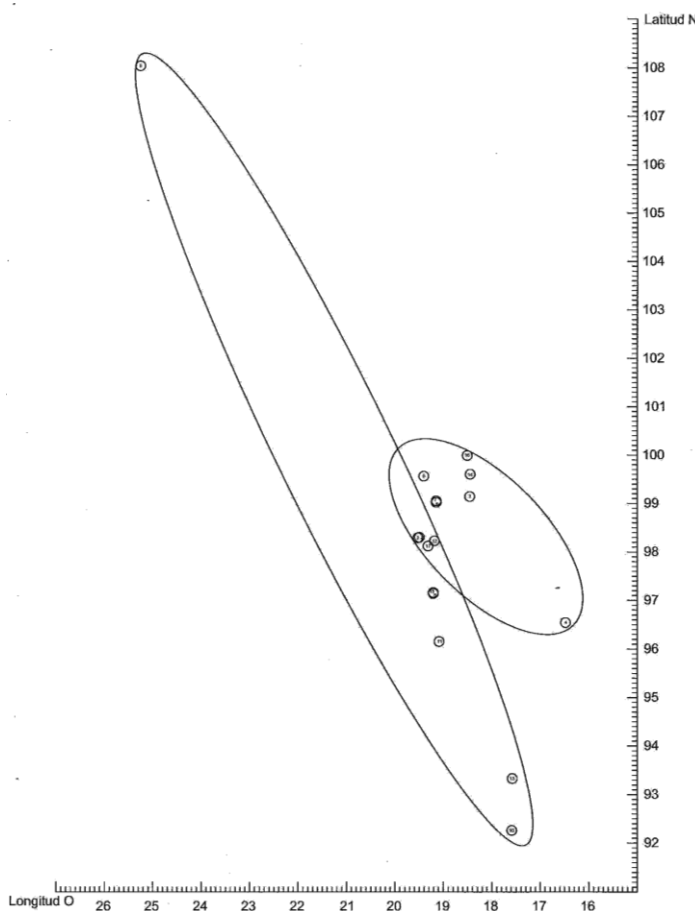
**Tabla 4** Clasificación de *Azolla*, lugar de colecta, altitud y número de assección en el IRRI de los 17 Ecotipos

Especie	Lugar de colecta	17 Ecotipos		Altitud (m)	No. IRRI	Colecta
		Latitud Norte	Longitud oeste			
FI	Chignaguapan (CH)	19°50'16"	98°00'57"	2320		-
	Tecocomulco (HI)	19°53'20"	98°29'54"	2520		1510
	Atlacamilco (MO)	18°46'28"	99°14'47"	1350		-
	Zimatlan (OA)	16°48'50"	96°54'12"	1500		8028
	Toshi (TO)	19°51'44"	99°56'20"	2550		-
	Tláhuac (TL)	19°15'25"	99°02'38"	2240		-
	Xochimilco (XO)	19°15'10"	99°05'10"	2240		8032
CA/ME	Cerro gordo (JA)	19.22'29"	96°14'45"	635		8027
	Guamúchil (SI)	25°26'00"	108°04'32"	50		4506
	Mazatiupan (TA)	17°59'30"	92°26'54"	10		4139
	Altamirano (VEJ)	19°09'50"	96°15'45"	18		3511
	Texmelucan (TE)	19°17'30"	98°25'45"	2300		8030
TI- FI	Cardenas (CE)	17°58'35"	93°23'12"	30		-
TI- CA/ME	Ticuman (TI)	18°45'59"	99°06'47"	970		-
TI-CA/ME	Veracruz (VEII)	19°21'55"	97°16'10"	18		8026
TI-FI	Jiutepec (JI)	18°51'21"	99°09'36"	1296		-
TI-CA/ME-FI	Atlangatepec (AT)	19°33'0.5"	98°10'32"	2500		-

Fuente: International Rice Research Institute (1987).

La colecta de *Azolla* fue hecha desde Huamúchil, Sinaloa hasta Cárdenas Tabasco, encontrando tres especies, siete *Azolla filiculiodes* (FI), cinco mezclas de *Azolla carolinina* y *Azolla mexicana* (CA/ME), la clasificación y número de 13 Ecotipos (Cuadro, 1) fueron obtenidas desde el International Rice Research Institute (IRRI), el resto fue identificada tentativamente (IT) por su latitud, longitud y altitud como se muestra en la figura 1.

**Figura 4** Distribución geográfica de los 17 ecotipos colectados en la república Mexicana.



El trabajo de investigación, se realizó con un diseño de bloques completamente al azar, con tres repeticiones por cada tratamiento, con un total de 51 unidades experimentales, el establecimiento se inició pesando 1g de *Azolla* fresca de cada uno de los ecotipos y posteriormente se colocó en recipientes de plástico ( $10 \times 6 \times 5$  cm) con una área de  $0.01566\text{m}^2$  conteniendo solución nutritiva Yoshida (solución nutritiva sin nitrógeno SN). La SN fue removida cada tres días para evitar la proliferación de algas que impiden el crecimiento de helecho, después de los 26 días. El incremento del peso fresco de la biomasa fue tomado cada veintiséis días después de la siembra para lo cual se utilizó una malla plástica para el filtrado del material. Luego las fondas de *Azolla* eran lavadas con agua de chorro y posteriormente con agua destilada, secadas al aire por media hora, en seguida la muestra fue secada en una estufa a  $90^\circ\text{C}$  hasta alcanzar el peso constante, por diferencia de peso se determinó el contenido de humedad de las muestras.

Las variables que se tomaron fueron para determinar el crecimiento de la biomasa fueron, Tasa media de crecimiento absoluto (TMCA), Tasa media de crecimiento del cultivo (TMCC), Tasa media de crecimiento relativo (TMCR) y tiempo de duplicación, donde  $P_1$  y  $P_2$  son el peso inicial y final, respectivamente, y T es el tiempo de la colecta.

$$= \frac{P_2 - P_1}{T} = \text{gdía}^{-1} \qquad = \frac{P_2 - P_1}{\text{Área}} = \text{gm}^2\text{día}^{-1}$$

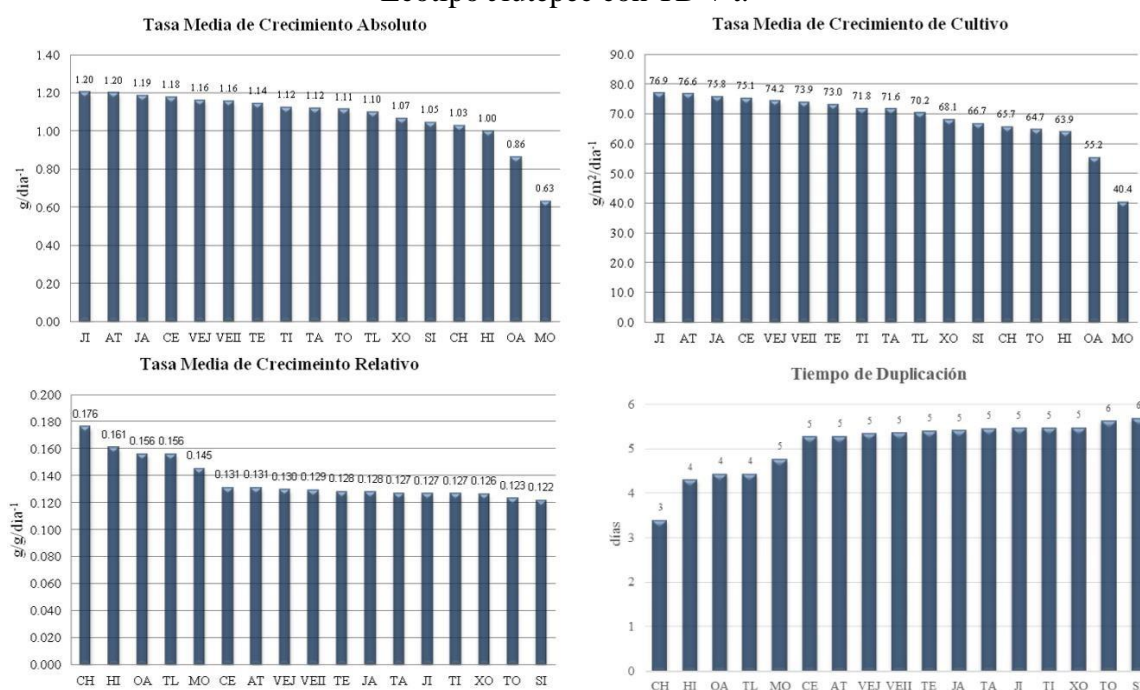
$$= \frac{\log_{(e)}(P_2) - \log_{(e)}(P_1)}{T} = \text{ggdía}^{-1} \quad = \frac{\ln_2}{\text{TMCR}} = \text{días}$$

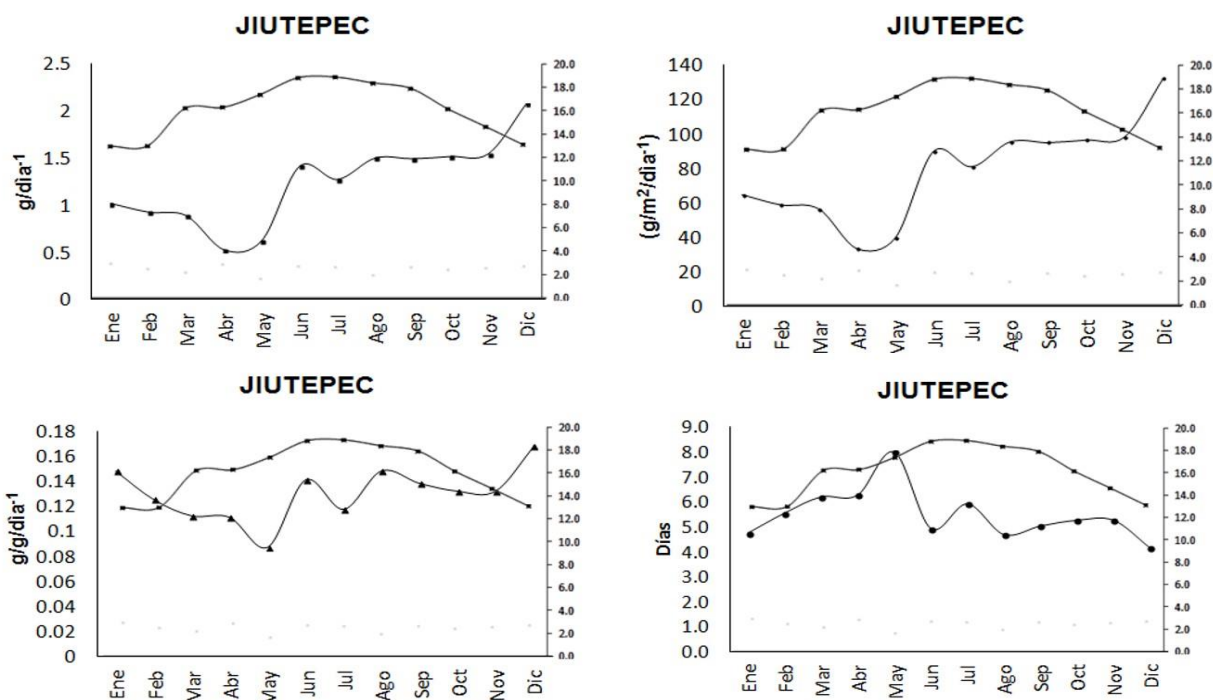
Se realizaron análisis de varianza y las comparaciones de medias con DMS ( $\alpha= 0.05$ ) utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (SAS, versión 1998). Los análisis estadísticos se procesaron con el Sistema de Análisis Estadístico (SAS)

## 4.2 Resultados y discusión

El crecimiento que se observó en cada uno de los ecotipos no fue limitado por las condiciones distintas a los lugares de orígenes, como lo menciona Payawal y De Macale que es importancia de conocer las diferencias entre las accesiones de la especie de *Azolla*. De acuerdo a estos autores las condiciones donde se desarrolla la especie puede limitar su capacidad de ser usado como biofertilizante, ya que puede afectar su capacidad de producir biomasa y su fijación biológica de nitrógeno. En general, todos los ecotipos de *Azolla* utilizadas en el experimento presentaron un crecimiento satisfactorio en el medio de cultivo utilizado, sin embargo si se presentaron diferencias significativas entra cada uno de ellos. Desde el punto de vista de aumento de peso por unidad de tiempo, la TMCA incremento su biomasa por día, encontrando que los ecotipos JI, AT, y JA, fueron los más sobresalientes de los diecisiete, obteniendo valores de 1.2  $\text{gdía}^{-1}$ , al igual que la TMCC, en cuanto en crecimiento que te tuvo en un metro cuadrado por día, consiguiendo 76  $\text{gm}^{-2}\text{día}^{-1}$ , como se observa en la figura 2. Estos resultados sugieren que estos ecotipos son altamente eficiente en la producción de biomasa en corto tiempo requiriendo una baja cantidad de nitrógeno. De acuerdo a Quintero y Ferrera-Cerrato (1992), se perfilan como una fuente importante de materia orgánica para el suelo debido a su rápida multiplicación, utilizando nitrógeno atmosférico como fuente de N.

**Figura 4.1** TMCA (A), TMCC (B), TMCR (C) TD (D), Ecotipo Jiutepec con TMCA y temperatura (E) Ecotipo Jiutepec con TMCC y temperatura (t) (F), Ecotipo Jiutepec con TMCR + t (G) y Ecotipo Jiutepec con TD + t.





La TMCR, donde el crecimiento es de cada gramo cuantos gramos crece por día, se obtuvo en el ecotipo CH valores de  $0.175 \text{ gg}^{-1}\text{día}^{-1}$ . En regiones central costera del Estado de Veracruz, Pérez (1986); Quintero (1988), obtuvo la máxima tasa relativa de crecimiento medio de una combinación de  $50 \text{ kg de P}_2\text{O}_5\text{ha}^{-1}$  y 100% de radiación solar ( $0.120 \text{ gg}^{-1}\text{día}^{-1}$ ).

Mientras que el tiempo de duplicación se obtuvieron rangos desde tres días hasta seis días, lo que es el doble de tiempo de multiplicación. Espinoza (2003), encontró tiempos de duplicación que van de 2.8 hasta 4.8 días, en accesiones de *Azolla filiculoides* colectadas en Venezuela.

### 4.3 Conclusiones

Los resultados de este estudio muestran que los ecotipos colectados en la República Mexicana, presentaron diferencias en cuanto a las tasas de crecimiento y tiempo de duplicación.

Los ecotipos Jiutepec, Atlangatepec y Cerro Gordo presentaron una similitud en cuanto a la tasa media de crecimiento absoluto y tasa media de crecimiento del cultivo, a diferencia de los ecotipos Chignahuapan, Tecocomulco y Zimatlan, fueron semejantes en la tasa media de crecimiento relativo y tiempo de duplicación.

### 4.4 Referencias

Azolla Utilization - Proceedings of the Work shop on *Azolla* Use. International Rice Research Institute, 1987

Belnap, J. 2002. Nitrogen fixation in biological soil crusts from southeast Biology and Fertility of Soils Utah, USA. 35 (2): pp. 128-135.

Espinoza Y. y Gutiérrez R. 2003. Variabilidad intraespecifica de *Azolla filiculoides*, colectadas en la zona centro-occidental de Venezuela. Instituto de Investigaciones en Recursos Agroecológicos.

International Rice Research Institute, 1992, Biofertilizer Germplasm Collections at IRRI, Los baños, Manila, Philippines. 74p.

Kiguli LN. The utilization of *Azolla filiculoides* Lam. as a biofertilizers under dry land conditions. MSc thesis, Rhodes University, 2000.

Mosquera, L. J. y Calderon, R. A. (2002). Evaluación de parámetros bioquímicos y morfogenéticos en la simbiosis *azolla filiculoides* – *anabaena azollae* como respuesta a la interacción de la calidad de luz y dos niveles de nitrógeno. Ecología aplicada. UNALM. 1. 1:89-94

Payawal, P. C. y M. A. De Macale. (1990). Population growth of selected *Azolla* hybrids grown on lahar-contaminated soil. The Phil. Agri. 74. 4:499-501.

Peters, G. A., R. E. Toia Jr., W. R. Evans, D. K. Christ, B. C. Mayne y R. E. Poole. "Characterization and comparisons of five N<sub>2</sub>-fixing *Azolla anabaena* association. I. Optimazation on growth conditions for biomass increase and N content in a controlled environmental", *Plant cell Env.* 3:261-269, 1980b.

Quintero, L. R. 1988, Evaluacion de uso de biofertilizante *Azolla*, en Arroz (*Oriza sativa* L.) bajo condiciones de invernadero. Colegio de Postgraduados. México. p. 226.

Peters, G. A. y Meeks, J. C. (1989). "The *Azolla-Anabaena* Symbiosis: Basic Biology". Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 40: pp. 193-210. doi :10.1146.

Quintero, L. R. y R. Ferrera-Cerrato. 1992. *Azollatum* "Alfredo Echegaray Alemán". En: J. L. Tovar y R. Quintero (eds). La investigación edafológica en México. Memorias del XXV Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. p 242.

Quintero, L.R., R. Ferrera-Cerrato. 2000. *Azolla* helecho fijador de nitrógeno y su potencial en México, en J. J. Peña Cabriales (Ed.), La fijación biológica de nitrógeno en América Latina: El aporte de las técnicas isotópicas, Irapuato, México.

Wagner, G. M. (1997). "*Azolla: a review of its biology and utilization*". The Botanical Review 63: pp. 1-26.