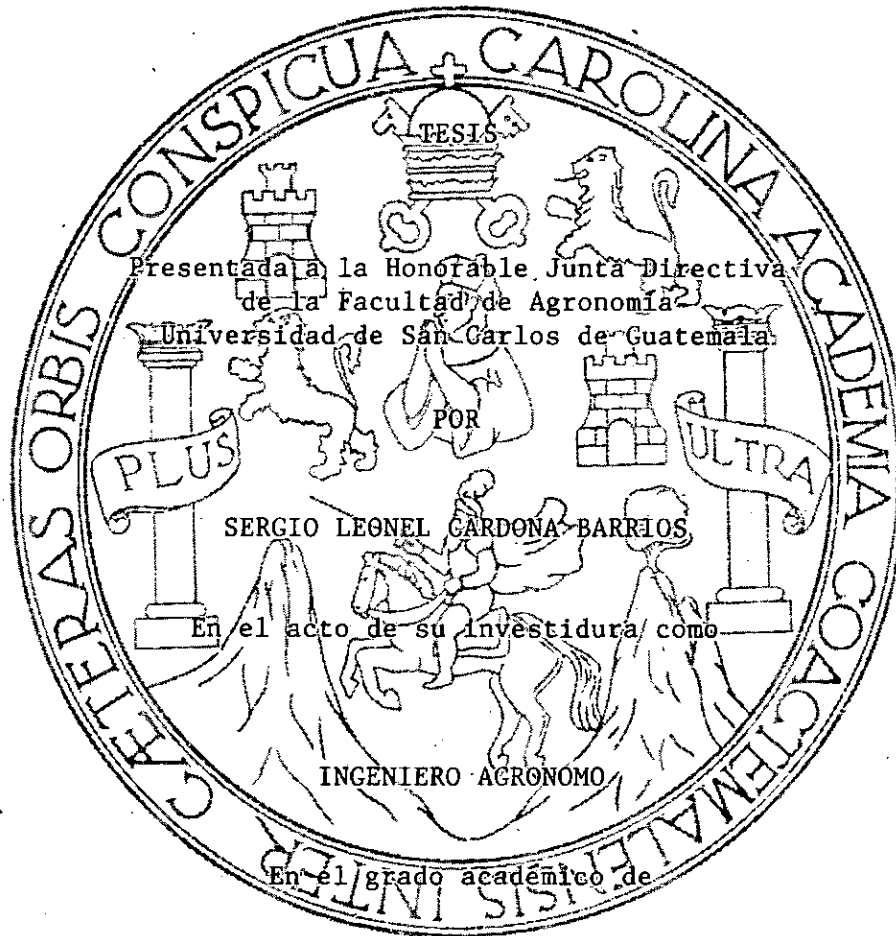


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

INVESTIGACION DE ZONAS POTENCIALES DE DISTRIBUCION GEOGRAFICA
DEL HELECHO AZOLLA EN GUATEMALA, IDENTIFICACION
Y CARACTERIZACION DE SUS ESPECIES



LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

TESIS DE REFERENCIA
NO

SE PUEDE SACAR DE LA BIBLIOTECA
BIBLIOTECA CENTRAL - USAC

Guatemala, Octubre 1987



DL
01
T (1074)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

LIC. RODERICO SEGURA TRUJILLO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Ing. Agr. Aníbal Martínez M.
VOCAL I	Ing. Agr. Gustavo Méndez G.
VOCAL II	Ing. Agr. Jorge Sandoval I.
VOCAL III	Ing. Agr. Mario F. Melgar M.
VOCAL IV	Br. Luis Molina Monterroso
VOCAL V	T.U. Carlos E. Méndez
SECRETARIO	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Agr. César A. Castañeda S.
EXAMINADOR	Ing. Agr. Samuel Córdova
EXAMINADOR	Ing. Agr. Mynor Estrada
EXAMINADOR	Ing. Agr. Mario Enrique Aguilar P.
SECRETARIO	Ing. Agr. Rodolfo Albizúrez P.



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1543

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia
Asunto

Guatemala,
12 de agosto de 1987

Ingeniero Agrónomo
Aníbal Martínez M.
Decano
Facultad de Agronomía


Señor Decano:

De manera atenta me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que en esta fecha he finalizado la asesoría del trabajo de investigación de tesis del estudiante SERGIO LEONEL CARDONA BARRIOS con carnet No. 78-00704, quién efectuó el trabajo titulado " INVESTIGACION DE ZONAS POTENCIALES DE DISTRIBUCION GEOGRAFICA DEL HELECHO AZOLLA EN GUATEMALA, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE SUS ESPECIES ".

El presente trabajo considero que llena los requisitos científicos obligatorios y constituye, además, un aporte importante al paquete tecnológico nacional en el campo de la Fijación Biológica del Nitrógeno y en el reconocimiento de especies vegetales en nuestro país.

Sin otro particular, me suscribo deferentemente de usted,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Ing. Agr. Rolando G. Aguilera M.
ASESOR

Guatemala, Agosto de 1987

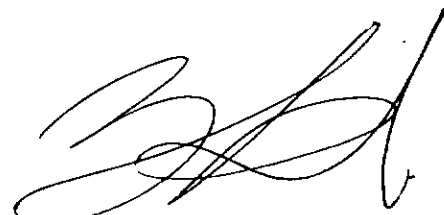
Señores
Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señores:

De conformidad con lo que establece la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado " INVESTIGACION DE ZONAS POTENCIALES DE DISTRIBUCION GEOGRAFICA DEL HELECHO AZOLLA EN GUATEMALA, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE SUS ESPECIES ".

Presentándolo como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas, confío merezca vuestra aprobación.

Respetuosamente,



Sergio Leonel Cardona Barrios

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES

José Leonel Cardona Alvarado
Elsa Marina Barrios de Cardona

A MI HERMANO

Dr. Héctor Danilo Cardona Barrios

A MI AMIGO

Dr. Federico Ranero Cabarrús

A MI NOVIA

Ileana Barrios Hernández

A MIS FAMILIARES

TESIS QUE DEDICO

A GUATEMALA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE AGRONOMIA

A MIS AMIGOS

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCION Y DE TRABAJO

AGRADECIMIENTOS

Al personal del herbario de la Escuela de Biología de la Universidad de San Carlos, especialmente:

Dra. Elfriede de Pöll por su acertada y valiosa colaboración, en el desarrollo de la presente investigación.

Licda. Nury Díaz por su interés y colaboración en el desarrollo de la presente investigación.

Por su asesoría y valiosa colaboración, así como las pertinentes indicaciones en el desarrollo de la investigación, mi reconocimiento al Ing. Agr. Rolando Aguilera Mejía.

A todas aquellas personas que una manera directa e indirecta ayudaron al desarrollo y ejecución de la investigación, especialmente a:

Ing. Agr. Walter Soél García C.

Prof. Luis Armando Quezada G.

Ing. Agr. Víctor Monroy E.

Br. Juan Carlos Hidalgo

Br. Maya Alvarado Ch.

Dr. Federico Ranero C.

Br. Oscar López L.

Ing. Agr. Rudy del Cid

Secret. Mirna Boteo C.

Ing. Agr. Roberto Wirtz G.

	<u>CONTENIDO</u>	<u>PAGINA</u>
	RESUMEN	
I.	INTRODUCCION	1
II.	OBJETIVOS	2
	II.1 Objetivo General	2
	II.2 Objetivos Específicos	2
III.	REVISION DE LITERATURA	2
	III.1 Historia	2
	III.2 Descripción General del Helecho Azolla	3
	III.3 Limitaciones para la identificación taxonómica de Azolla	3
	III.4 Azolla, Distribución y Ambiente	5
	III.5 Características Botánicas de las especies de Azolla	7
	III.6 Azolla, Esquemas y Dibujos	9
	III.7 Descripción Botánica y taxonómica de las Algas verdes-azules	15
	III.8 Distribución y Ambiente de las Algas verdes-azules	16
	III.9 Anabaena azollae, Esquemas y Dibujos	17
	III.10 La función biológica del Nitrógeno en la asociación Azolla-Anabaena y algunos beneficios a la Agricultura	19
	III.11 Países que estudian la asociación Azolla-Anabaena e Informes de Guatemala	21
IV.	MATERIALES Y METODOS	21
	IV.1 Materiales	21
	IV.2 Metodología	22
V.	RESULTADOS Y DISCUSION	24
VI.	CONCLUSIONES	31
VII.	RECOMENDACIONES	32
VIII.	BIBLIOGRAFIA	33
IX.	ANEXOS	39

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAG.
1	Azolla, estructuras y dibujos.	9
2	<u>Azolla filiculoides</u> Lam, dibujos.	10
3	Azolla, estructuras.	10
4	Azolla, glochidias, dibujos.	11
5	Azolla, estructuras de especies diversas.	12
6	Azolla, estructuras de especies diversas.	13
7	Simbionte de <u>Azolla pinnata</u> R. Br. , dibujos.	17
8	Simbionte de <u>Azolla filiculoides</u> Lam, dibujos.	17
9	<u>Anabaena azollae</u> , dibujos.	17
10	Filamentos de <u>Anabaena azollae</u> .	17
11	Comparación en tamaño de 2 diferentes especies de Anabaena.	18
12	Heterocistos de <u>Anabaena azollae</u> .	18

INDICE DE ANEXOS

ANEXO		PAG.
1	Cronograma de Visitas y Recolección	40
2	Resultados Marzo/86 Ph.D. Robert Stolze	44
3	Resultados Julio/86 Ph.D. Robert Stolze	45

INDICE DE FOTOGRAFIAS

FOTOGRAFIA		PAG.
1	Parte Apical o punta de una ramificación de <u>Azolla microphylla</u> Kaulf, recolectado en los Esclavos, Sta. Rosa.	11
2	Plantas del helecho <u>Azolla microphylla</u> Kaulf. creciendo en medio controlado y recolectado en Santiago Atitlán.	14
3	Plantas del helecho <u>Azolla filiculoides</u> Lam. creciendo en ambiente natural; recolectado en Km. 16.5 Col. La Leyenda, San Pedro Ayampuc.	14

RESUMEN

Presionados por la crisis energética, el sistema de los países desarrollados y tercermundistas evalúan rápidamente los beneficios que la fijación biológica del nitrógeno ofrece, como lo es reducir la dependencia del ser humano a los fertilizantes químicos nitrogenados, utilizando en esta investigación una de las múltiples alternativas que la naturaleza nos brinda; y para ello se investigó la presencia, zonas potenciales de distribución geográfica; identificación y caracterización del helecho acuático Azolla, que en simbiosis con el alga verde-azul Anabaena, tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, actuando de esta forma como sustituto de fertilizante nitrogenado al incorporarse al sistema suelo-planta.

La investigación fué orientada a 2 tipos de Objetivos; el primero fué un Objetivo General que tenía como fin, determinar la existencia o no existencia del helecho Azolla y de posibles especies; y el segundo fueron los Objetivos Específicos que dependían de la existencia propiamente del helecho, estos enmarcaban clasificar y describir botánicamente el helecho, describir algunas características del habitat en donde se encontrara el Azolla.

Para cumplir los objetivos se llevó a cabo la siguiente metodología: Se seleccionó las Zonas a Muestrear, se efectuó el reconocimiento del área de recolección, recolección de las muestras, traslado de muestras y la identificación del material.

Lo último fué sin duda el punto más crítico de la investigación, debido a lo pequeño de la planta, a lo complicado de su taxonomía y a la infertilidad de los especímenes recolectados, lo que condujo a que la mayoría de especímenes recolectados fueran enviados al Field Museum of Chicago con el experto en helechos Ph. D. Robert Stolze, quien amablemente nos reportó datos para la identificación lo que consta en Anexo 2 y 3. Los especímenes enviados también fueron trabajados acá bajo claves botánicas y caract. vegetativa que se tenían de referencia llegándose a obtener algunos resultados similares a los del Ph. D. Stolze.

En total los lugares visitados fueron 14, de los cuales únicamente 5 resultaron con presencia del helecho, estos fueron:

- Santiago Atitlán: Azolla microphylla Kaulf
- Río Los Esclavos: Azolla microphylla Kaulf
- Col. Leyenda Km.16.5 Carret.Sn.Pedro Ayampuc: Azolla filiculoides Lam
- Puente sobre Río Sn. José, Esquipulas, Chiquimula: Azolla microphylla. Kaulf
- El Chupón, El Estor, Izabal: Azolla caroliniana Willd

Parte de las muestras fueron colocadas en láminas portaobjetos y preparadas para mantenerse por largo tiempo a través de una solución de gelatina glicerizada, esto permitió y permitirá conocer un poco más al helecho, fué acá como se detectó en un 75% la presencia del alga Anabaena azollae.

De lo anteriormente expuesto, se puede decir que:

Si existe el helecho acuático Azolla en Guatemala.

A través de características morfológicas y vegetativas debido a la infertilidad de los especímenes la identificación no es tan certera, pero puede decirse que en el estudio se identificaron 3 posibles especies.

El helecho Azolla se encuentra desarrollándose en aguas semiestancadas o estancadas, con alto contenido de materia orgánica procedente de aguas servidas y en descomposición de desechos orgánicos e inorgánicos, independientemente de la zona ecológica donde se localizó.

Se recomienda seguir con las investigaciones de Azolla, principalmente aquellas que logren determinar con certeza la identificación de especies, para lo cual deberá monitorearse en casi todo el año las especies ya encontradas para lograr recolectar especímenes fértiles, lo que enriquecería más nuestra flora.

También los estudios de productividad, propagación y capacidad de fijación de nitrógeno de las especies encontradas, ya que como sabemos Azolla puede usarse como sustituto de fertilizante nitrogenado al fijar el complejo Azolla-Anabaena nitrógeno de la atmósfera en cantidades apreciables.

I. INTRODUCCION

Los resultados obtenidos del estudio de App y Eaglesham (3) muestran la relación que existe entre la producción de cereales y el uso de fertilizantes. En su estudio ellos indican que en el período de 1950-1974 el nitrógeno elevó los rendimientos de las cosechas.

Otros investigadores en igual caso a App y Eaglesham han estimado la importancia de la fertilización nitrogenada en los cereales y creen que de un tercio a un medio de este incremento en la producción durante los últimos treinta años se puede atribuir al uso del nitrógeno. A groso modo 20 millones de toneladas de fertilizantes nitrogenado, un tercio del consumo total del mundo, es usado actualmente en los países menos desarrollados.

Debido a la crisis energética de 1974, los productos manufacturados de combustibles fósiles como los fertilizantes nitrogenados, tuvieron un alza inmoderada en los precios y aunque en los primeros meses del año 1986, los precios del petróleo bajaron en un porcentaje considerable en el mercado internacional, el problema principal para Guatemala radica en la adquisición de divisas para la compra y abastecimiento de los mismos, lo que afecta el precio de los productos agrícolas y en casos más severos los rendimientos por unidad de área al dejar de ser adquiridos por los agricultores de escasos recursos.

La crisis ha sido mundial pero en los países orientales como la República Popular de China la agricultura tradicional por siglos ha usado abonos verdes, desechos orgánicos y compost en cultivos como el arroz. Se estima que aproximadamente dos tercios del nitrógeno que se aplica a este cultivo proviene de allí.

Tomando ejemplo de tal situación, presionados por la crisis energética, el sistema de los países desarrollados y tercermundistas están evaluando rápidamente los beneficios que la fijación biológica del nitrógeno ofrece; reducir la dependencia del ser humano a los fertilizantes químicos nitrogenados y para ello en este estudio utilizamos una de las múltiples alternativas que la naturaleza brinda; se investigará la presencia y algunos aspectos de biología del helecho acuático Azolla, que en simbiosis con el alga verde-azul Anabaena, tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y actúa como un sustituto de fertilizante nitrogenado al incorporarse al sistema suelo-planta.

Con este estudio pretendemos, motivar e incentivar a la realización de investigaciones más profundas que desde luego contribuirán a lograr un mejor entendimiento de la asociación Azolla Anabaena en Guatemala y un mayor aprovechamiento de estos como fuente de nitrógeno.

II. OBJETIVOS

II.1 - OBJETIVO GENERAL

II.1.1 Confirmar la existencia o no existencia del helecho acuático Azolla en Guatemala y sus posibles especies.

II.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS DEPENDIENDO DE SU EXISTENCIA

II.2.1 Clasificar la o las especies de Azolla encontradas

II.2.2 Describir botánicamente la o las especies de Azolla encontradas

II.2.3 Describir algunas características del habitat asociado a la existencia del helecho Azolla en las regiones investigadas

III. REVISION DE LITERATURA

III.1 HISTORIA

Lamarck en 1785 fundó el género Azolla basado en las especies simples de A. filiculoides, Ninguna otra especie era conocida hasta 1810 cuando Willdenow describió A. caroliniana, basado sobre material derivado de Richard en París y a consecuencia probablemente colectado por Michaux en los Estados del sureste de los U.S.A.

Así todavía, la diferenciación de especies fue basada solamente sobre aspectos vegetativos, A. caroliniana fue descrita por Robert Brown poniendo el género sobre bases científicas. No fue sino hasta 1847 que Mettenius caracterizado por Christensen como el helecho más cercano estudiado en el siglo XIX publicando una monografía del género en los cuales las especies eran cuidadosamente delimitadas. Desafortunadamente él sólo dibujó de material vivo y no los describió.

Desde el tiempo de Mettenius el tratamiento sistemático de Azolla se ha deteriorado gradualmente; el trabajo elaborado de los géneros por Strasburger en 1873 insistió en los detalles de la estructura celular y la historia de su vida, pero no contribuyó en nada la taxonomía.

Desde hace cientos de años en China descubrieron que la Azolla, un género de helecho acuático es un efectivo abono verde y fertilizante nitrogenado (25). China es el país más avanzado en el uso de Azolla como abono verde. Una cantidad limitada de estudios para Azolla empezó durante los años 1950 y se ha intensificado desde principios del año 1960. Esfuerzos exhaustivos en todos los niveles, desde las comunidades hasta las Academias Nacionales mantienen a China

al frente de los nuevos descubrimientos (25). El Azolla, es uno de los abonos más importantes para el arroz en las provincias del sur-este de China, donde más de un cuarto de millón de hectáreas son cultivadas anualmente según Lumpkin (25).

La utilización de Azolla responde a las características que denotan a un buen abono verde como lo son: fácil propagación, rápido crecimiento, producción de fronda abundante con un contenido relativamente alto de nitrógeno, fácil y rápida descomposición en el suelo, falta de enfermedades para no dañar las cosechas siguientes (8). En China, Azolla se ha cultivado en tanques e invernaderos durante los meses de invierno, para luego ser usados en los campos de arroz en la primavera.

En muchos países, incluyendo América, Azolla es considerada una maleza (17).

En la China, investigaciones del uso de Azolla como abono verde en campos de arroz y su uso como forraje han sido realizados con éxito por Chu (9). Estudios realizados por Subudhi y Watanabe (44) muestran que el uso de la asociación Azolla-Anabaena es una fuente nitrogenada de mucho valor orgánico para el arroz. En el norte de Vietnam, Azolla ha sido usada por siglos, pero se empezó a investigar sistemáticamente después de 1954 (44). En la India el uso de Azolla como biofertilizante es relativamente de recién desarrollo. El alga verde-azul Anabaena contenida en el Azolla ha sido utilizada como biofertilizante en la India por más de 10 años (32).

III, 2 DESCRIPCION GENERAL DEL HELECHO AZOLLA

Azolla pertenece a la familia Salvinaceae (6, 15, 30, 42).

Son plantas pequeñas, acuáticas (30, 43), que forman una densa cubierta en la superficie del agua de varios cms., de grueso (30, 42, 43), como evitando mosquitos en la superficie y por esta razón a la planta se le conoce algunas veces como "Mosquito - Helecho" (45), estas pequeñas plantas flotan libremente (28, 45) enviando sus raíces o raicillas hacia abajo del agua, las raicillas que cuelgan dentro del agua miden en largo 0.5 - 5(-6) cms., de igual manera que la hierba de pato (Lemna), las raíces o raicillas son simples, filiformes y con abundantes pelos absorbentes (28, 42, 43, 45), (fig. 1A), sus tallos son parecidos a pelos ramificados (28). Las hojas son diminutas, alternas, bilobuladas, suculentas (45), son compactas, dispuestas en pares (43) sostenidas en dos hileras. Cada hoja está compuesta de dos lóbulos circulares (28, 42, 43, 45), estos lóbulos son opuestos (42) el lóbulo superior flota y no toca el agua del todo, su largo es de 0.4-1.8 mm., el lóbulo inferior está sumergido en el agua y participa en la absorción de la misma, y es más largo que el lóbulo superior, la mayor parte sin clorofila y sólo como una célula gruesa. Las plantas de Azolla son sostenidas en el agua por lóbulos inferiores, los cuales están adaptados en plantas que flotan en el agua y que están en contacto solamente con la superficie superior. Al empezar el crecimiento, tanto el lóbulo superior como el inferior son apesados y fuertemente imbricados. A medida que crece el lóbulo superior se extiende hacia arriba, son aplanados

en el mismo plano como los lóbulos inferiores y con la edad llegan a ser algo erectos (42, 45).

Las hojas más altas son verdes y las de abajo de menor color (28), también pueden ser rojizas o verduzcas, el color rojizo lo toman al estar muy expuestas a la luz solar y al ser muy viejas, mientras que en lugares sombreados permanecen verde-brillante (44, 45), las hojas tienen un tamaño de 2-3 mm. de largo (30). En las cavidades de los lóbulos superiores de las hojas suculentas, especialmente en la base de las hojas y en el punto de crecimiento del tallo vive o se aloja un alga verde-azul del género Anabaena azollae que es simbiote de Azolla, la cual fija nitrógeno atmosférico y se observa con frecuencia en forma de filamentos (2, 6, 7, 13, 18, 21, 36, 42, 43, 45).

Las hojas son dísticas aproximada o imbricada (42), con una ramificación pinnada o subdicotómica de estructura dorsoventral parecidas al género Selaginella, formando densas matas sobre el agua (42, 45). La reproducción es predominantemente vegetativa (14, 41), la cual tiene lugar por fragmentación de la planta que es la forma principal de reproducción (40) ya que el uso de esporas no es posible aún (25). Una planta simple de Azolla crecerá no más de 1/4 de pulgada en su estado de madurez, pero algunas especies llegan a medir de 1 a 2 pulgadas en el final de su madurez (17).

Las heterosporas y esporangios masculinos y femeninos son producidos en estructuras circulares separadas (sporocarpos); comunmente localizados en parejas en las axilas de las hojas viejas, protegidas por una membrana Indisium; megasporangio elipsoide con apariencia de bellota, consistente de una megaspora sencilla y larga con apéndices. Cada apéndice de 0.5 mm., de largo un poco puntiaguda, usualmente castaño en la parte final, redondeado y próximo a verduzo o verduzco; microsporocarpo globoso, a menudo de más de 1 mm. de diámetro, sostenidas por numerosos pedicelos largos de la microsporangia, cada una de las cuales contiene 4-6 masas de esporas (máculas) ligadas juntamente por una delgada capa de materia protoplasmática endurecida, máculas espinosas con glochidia tricomas, cada mácula consiste de numerosas microsporas, que oscilan entre 32-64, microsporas, trilete, tetrahedral con periné, las cuales salen del microsporangio. Los vértices del esporangio, forman cuerpos flotadores llenos de aire que se conducen en el agua y posteriormente desarrollan un protalium como en Salvinia (fig. 1 G, H.).

Las esporas masculinas en masa con pelos modificados tienen forma de pelos de barba (45) o de ancla (28, 43) las máculas están protegidas en la superficie por estas glochidias que sirven de anclaje en las máculas de las megasporas flotantes. Estas glochidias están formadas de periplasmodium de la megasporangia fuertemente vacuolizada y que son tan necesarias para la determinación de las especies (44, 27)(fig. 1 H, J). La identificación de especies es basado sobre detalles de la glochidia (28, 42, 45) y sobre aspectos morfológicos vegetativos (41, 42).

III.3 LIMITACIONES PARA LA IDENTIFICACION TAXONOMICA DE AZOLLA

Especies de Azolla son fácilmente confundidas, desde que caracteres vegetativos han sido hasta aquí de pequeña ayuda y acerca del 70% de muchas colecciones son estériles. De las colecciones fértiles alrededor de la mitad serán encontradas careciendo ya sea de megasporangia o microsporangia. Además es necesario usar un microscopio compuesto para determinar la fertilidad del material con certeza.

A pesar del buen trabajo realizado por Svenson a finales de 1944 en el Nuevo Mundo, las especies de Azolla tienen aún un número de problemas pendientes de resolver en su taxonomía por lo difícil y pequeño de este género. Los caracteres más valiables de Svenson para diagnósticos son la glochidia tricoma septada contra la glochidia tricoma no septada de la másula, y el tipo de superficie esculpido sobre la megaspora. Sin embargo ocasionalmente especímenes son encontrados donde los tricomas son ambos septados y no septados, y las megasporas han sido hasta ahora encontradas en A. caroliniana Willd. Algún uso de carácter vegetativo no ha sido hecho tal como pinnada contra ramificación subdicotómica, condición y tamaño de los lóbulos de las hojas, y el tipo de tricomas y/o las papilas de las hojas de la superficie, pero ninguno tiene todavía prueba consistente ni ha sido correlacionada con éxito, con las formas esporangiales.

Un completo estudio monográfico es necesario, incluyendo un examen cuidadoso de las plantas vivas, junto con la colección de mejores y fértiles especímenes, y más observaciones precisas de campo. Sin embargo, el material estéril no puede ser identificado con certeza (42, 45).

III.4 AZOLLA, DISTRIBUCION Y AMBIENTE

El género Azolla comprende un número de especies de distribución mundial. Así que es probable que hayan especies o clones adaptados especialmente a diferentes condiciones climáticas. Por otra parte, la interferencia humana puede seleccionar ciertas variedades o clones para propósitos especiales. Esto ha ocurrido en Vietnam, China, Tailandia y otros países asiáticos, lo cual es probablemente la primera etapa para domesticar y explotar el helecho Azolla para los sistemas de agricultura (5).

Ocho especies han sido reportadas por Li, Zu y Mao (24), de las cuales seis también menciona Ferrera (14), cinco Lumpkin (26) y una más que reporta el documento de la organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (12) para totalizar 9 las especies que hasta el año 1982 se conocen; teniéndose además conocimiento de la existencia de más de 50 cepas de 5 especies de Azolla colectadas en todo el mundo y mantenidas en el Instituto Investigación Internacional de Arroz (IRRI) (49). Franda (15) ha obtenido e identificado 4 del total de 9 especies reportadas e identificadas.

Según Rains y Talley (31) Azolla filiculoides crece bien en temperaturas frías y es apropiado para usarse como abono verde y para cosechar cuando la tierra está en descanso al iniciarse la primavera; Azolla mexicana puede cultivarse en la temporada caliente y se adapta bien a las altas temperaturas.

Las especies que componen el género Azolla y que han sido distribuidas geográficamente por Ferrera (14) son:

Azolla pinnata, importante en Asia

Azolla nilótica, norte de Africa

Azolla filiculoides, Norte América y Sur América

Azolla caroliniana, Norte América y el Caribe

Azolla mexicana, América del Sur y Norte América

Azolla microphylla, América Tropical y Subtropical

Según el documento de la organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (12), Azolla africana es situada en Africa Occidental.

Las otras dos especies Azolla rubra y Azolla imbricata no son situadas geográficamente por el autor que las reporta (24). Las especies crecen en agua dulce detenidas o de movimiento lento (41), también pueden encontrarse en diques, estanques, pantanos, lagunas pequeñas que contienen aguas estancadas (7, 27, 37) y en campos inundados de arroz en Asia (1,7,37).

Seis de las especies mencionadas, sin que el autor señale a cuales en especial se refieren han sido encontradas en corrientes tranquilas, estanques de agua y pantanos en climas cálidos, templados y regiones tropicales (28).

Las plantas de Azolla se encuentran creciendo a pleno sol en compañía de la llamada duckweed o sea la Lemna, las que junto a otras plantas acuáticas cubren la totalidad de la superficie acuática, las plantas de Azolla en la estación seca, por estar muy expuestas a la luz solar tienen una coloración rojiza.

Durante un estudio conducido en Sulawesi del Sur de Indonesia se notó que el crecimiento del Azolla en áreas sombreadas fue mejor, mas coloración verde y más densa que en campos abiertos, es evidente que la sombra mejoró la apariencia del Azolla pero redujo notablemente la biomasa (8).

Las plantas jóvenes o muy sombreadas son generalmente verdes tanto que las más viejas o bajo la luz directa del sol son rojizas (41).

Estas aseveraciones lo comprueba aún mas el experimento llevado a cabo en Cicurug, Java Occidental en donde el tratamiento a luz directa del sol mostró una mayor biomasa y una coloración rojiza; en tanto el tratamiento con sombra, mostró una menor cantidad de biomasa y color verde obscuro (8).

III.5 CARACTERISTICAS BOTANICAS DE LAS ESPECIES DE AZOLLA

Azolla filiculoides. Lam

Es encontrada en lagos, pantanos, en zanjas húmedas, orillas quietas de las corrientes y en praderas pantanosas húmedas.

Las plantas elongadas con un tamaño frecuentemente de 0.8 a 2 cms. de largo, el lóbulo superior de la hoja es más imbricado y de moderado a fuertemente apresado, son elongados, de oblongos a ovalados, elípticos, obtusos a subagudos con un angosto a usualmente ancho, margen pálido papiloso o papiloso costroso sobre la superficie, de 0.5 a 1.2 mm. de largo, los lóbulos inferiores son del mismo tamaño y sustancialmente más largos, la superficie de la megaspora en su parte final provee protuberancias, la microsporangia contiene 4-6 másulas, microsporangia 35-100 en un indusium; las espinas posteriores con glochidia no septadas; ramificación pinnadamente a subdicotómicamente, generalmente por ramificación lateral del tallo. Svenson en 1944 mencionó que cuando una serie de plantas con frutos ha sido reconocido, los caracteres elongados y frondosos y las hojas curvas de buen desarrollo como A. filiculoides que frecuentemente son más grandes que la A. microphylla pero estas medidas no son una guía consistente. No hay ningún carácter vegetativo que permita hacer un diagnóstico consistente. Glochidia no septada, o con una o dos septas en el apex, megasporangia con alzados y marcadas irregulares hexagonales. Como en el caso de A. filiculoides, los caracteres vegetativos pueden no ser identificados consistentemente, pero la forma puede ser usada con alguna seguridad. En A. filiculoides las hojas agudas o subagudas de los lóbulos superiores son frecuentemente, sin embargo un número de lóbulos obtusos siempre pueden ser encontrados. Guatemala a Alaska, Oeste de los U.S.A., New York, Los Andes y Suramérica y ocasionalmente introducida en el este de los U.S.A., Hawai, Europa.

Azolla microphylla. Kaulf.

Plantas pequeñas de 0.5 a 1.2 (1.7) cm. de largo, ramificación pinnadamente a subdicotómicamente. El lóbulo superior de la hoja raramente o no del todo imbricado, frondoso, elíptica, oblonga o espatulada, obtusa o rara vez subaguda, con un estrecho a un poco ancho, margen pálido, papiloso sobre la superficie, algunos grandes 0.4 - 0.7 (0.9) mm. de largo. La superficie de la megaspora es uniforme; microsporangia contienen 3-4 (-5) másulas; las partes posteriores son espinosas con algunas muchas glochidias septadas. El lóbulo superior de la hoja en A. microphylla es comunmente obtuso, sin embargo aquí y allá están algunos que pudieran ser descritos como subagudos.

En Guatemala, Honduras, Salvador, Nicaragua, República Dominicana, Guayanas, Brasil, Bolivia e Islas Galápagos, se observaron fértiles colecciones.

Azolla mexicana Presl.

Plantas de media a una pulgada de largo, plantas de ramificación dicotónicamente 1-1.5 cm. de diámetro, con lóbulo superior de la hoja de 0.7 mm. de largo, los inferiores mucho más largos, microsporangia usualmente con 4 másulas, megasporas con hoyos o cavadas, no uniforme.

Glochidia muy septadas, puede ser confundida con A. filiculoides las cuales tienen glochidias no septadas y levantadas, al contrario que con hoyos o cavadas. Frecuente Oeste y Centro de Norteamérica, México a Suramérica, tierras bajas situadas al sur de Guinea Francesa y Bolivia.

Azolla caroliniana. Willd.

Especímenes de todas las especies americanas pueden ser encontradas en muchos herbarios, erróneamente determinados como A. caroliniana. Este nombre ha sido tomado, para muchos materiales estériles o por especímenes archivados por conservadores poco familiarizados con los problemas taxonómicos del género. La principal dificultad es que raramente tienen especímenes fértiles cuando los colectan y esos solamente tienen microsporocarpos. El material fértil sólo puede ser confundido como A. filiculoides. La parte posterior de la planta es generalmente mas larga, mucho más que 1 cm. largo con lóbulo superior de la hoja de 1.8 cm. largo.

Plantas de Azolla caroliniana son comunmente de 0.5 de largo, lóbulo superior de la hoja de 1.8 cm. de largo.

Glochidia no septada, plantas pequeñas mucho menos que una a media pulgada largo, y 0.5 a 1 cm. de diámetro, ramificación dicotómicamente, casi orbicular, hojas pequeñas divaricadas (0.5 mm. largo) lisas uniformes no estrictamente imbricadas, microsporangia 8-40 en un indusium.

Con material estéril, el problema es complejo, para otros los caracteres vegetativos son de pequeña ayuda en el diagnóstico. Svenson (1944) mantiene A. caroliniana que es confinada al este de los U.S.A., con quizá algunas colecciones anotadas de las Grandes Antillas, también otros mencionan a A. caroliniana al este de los U.S.A., este de la India.

III.6 AZOLLA, ESQUEMAS Y DIBUJOS

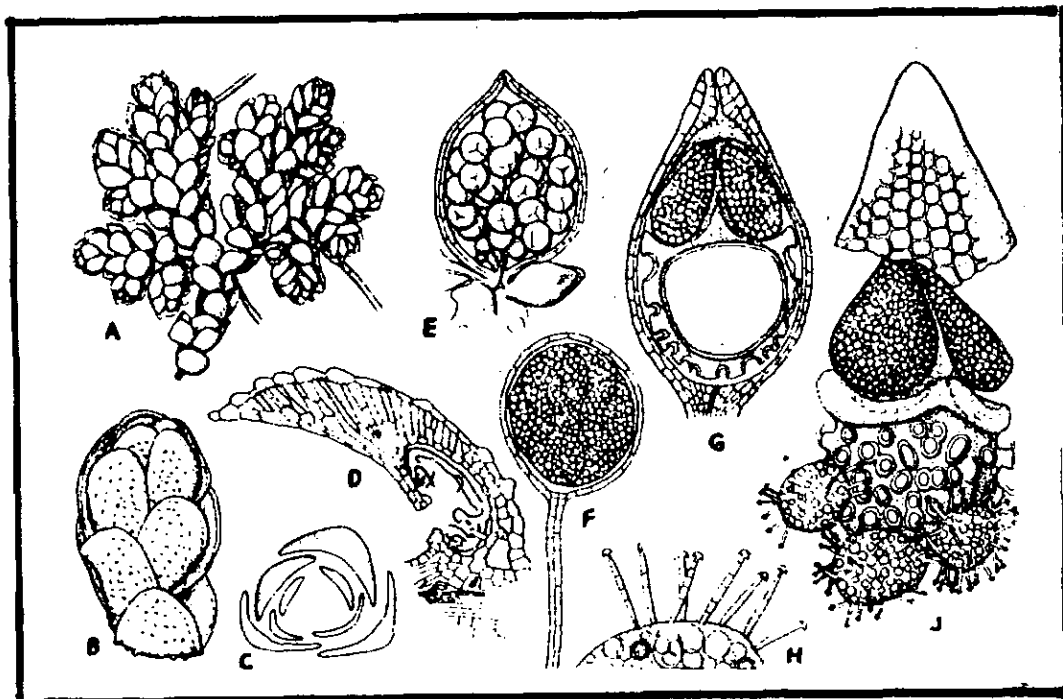


Fig. 1. Azolla (A, H Azolla caroliniana, todo lo demás A. filiculoides) A. Vista de la planta por encima (4X). B. Parte apical o punta de una ramificación vista por encima (12X). C. Igual a B solo que en corte transversal (12X). D. Corte Longitudinal de un lóbulo superior de una hoja; en la cavidad Anabaena azollae (70X). E. Soro masculino arriba y femenino abajo (20X). F. Microsporangio (65X). G. Megasporangio rodeado por Indusium que contiene una megaspore con cuerpo flotador (65X). H. Parte de una másula con glochidios (160X). J. Megaspore sacada de la mitad superior del indusium para hacer visible el cuerpo flotador, en el episporo están fijadas 3 másulas por medio de sus glochidios (65X). AD-J (Strasburger), BC (Goebel). Tomado de Strasburger (43).

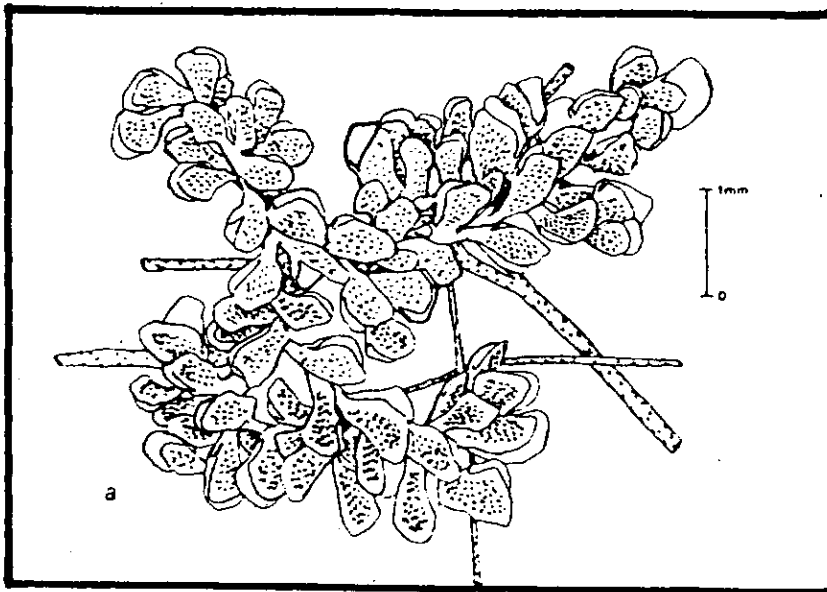


Fig. 2

Azolla filiculoides, habitat
(18X) Tomado de Mickel (28).

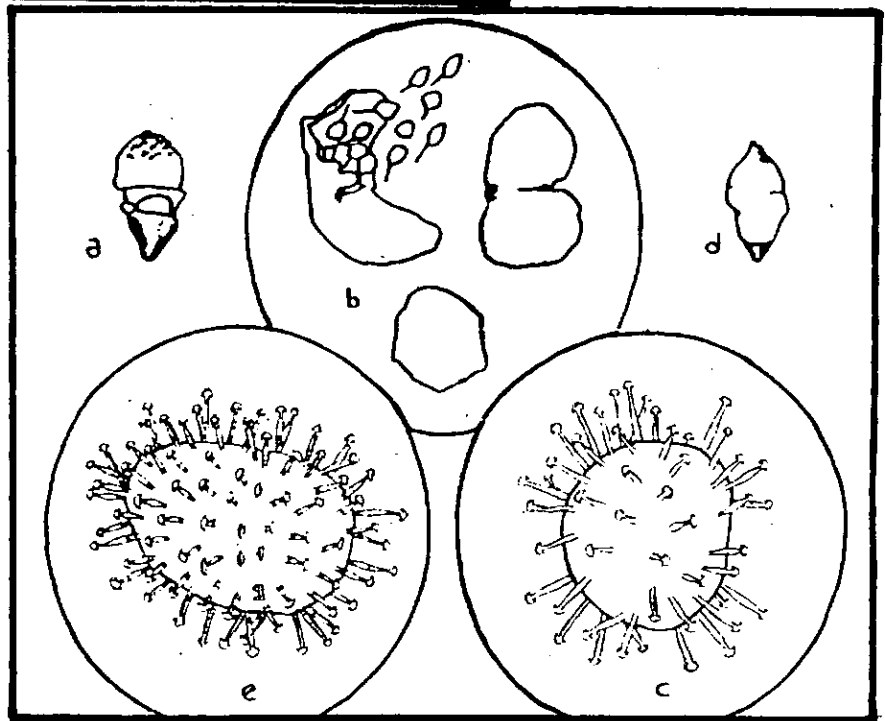


Fig. 3

Azolla a-c, *A. filiculoides*: a, megasporangium (33X); b, sporocarpo indusia con microsporangio (15X); c, másula con glochidia tricoma noseptada (240X); d-e, *A. microphylla*: d, megasporangium (33X); e, másula con glochidia tricoma septada (240X). Tomado de Mickel (28).

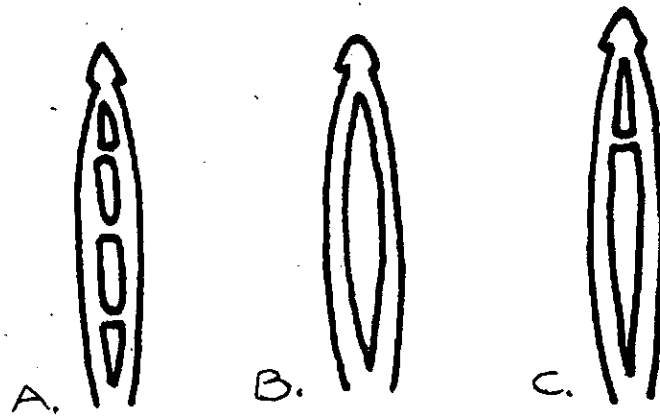


Fig. 4

- A. Glochidia Azolla mexicana Presl.
- B. Glochidia Azolla caroliniana Willd.
- C. Glochidia Azolla filiculoides Lam.



Fotografía No. 1

Parte apical o punta de una ramificación de Azolla microphylla Kaulf., recolectado en los Esclavos, Santa Rosa.

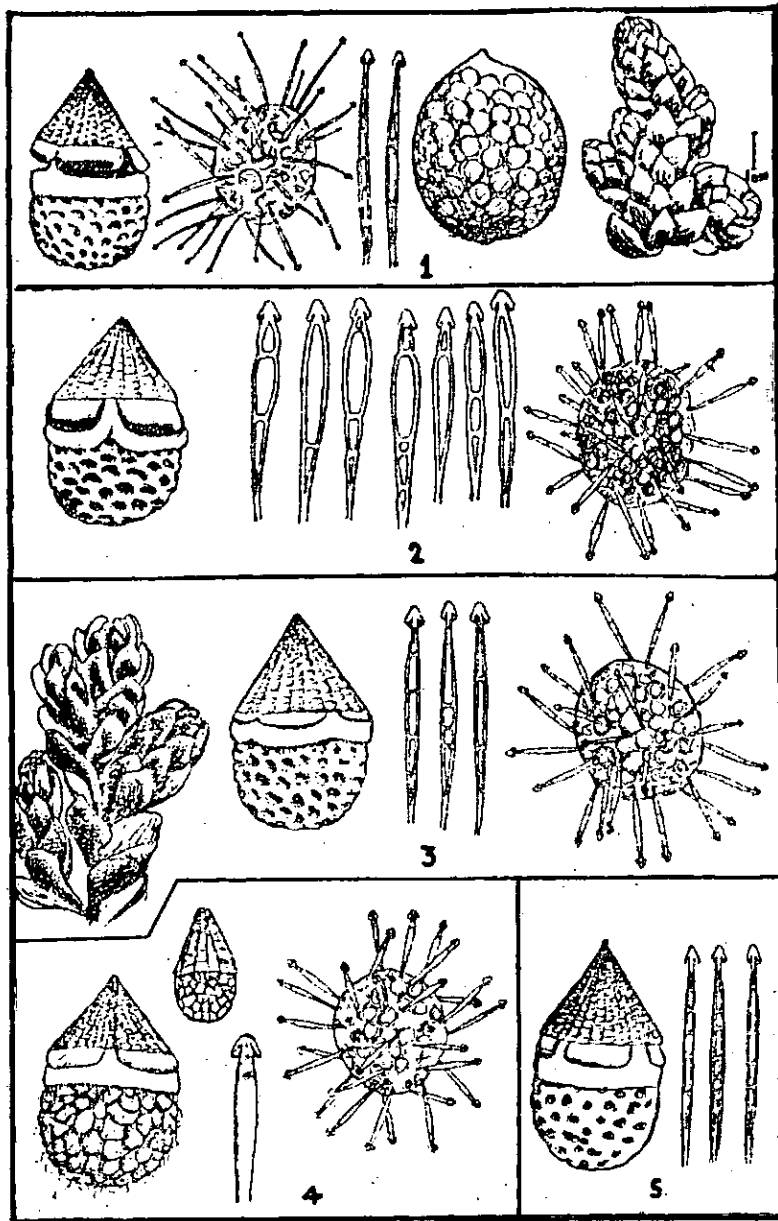


Fig. 5

Fig: 5.1. Azolla mexicana, Bolivia, Cárdenas; 5.2. Azolla mexicana, Washington, Suksdorf; 5.3. Azolla mexicana Oregon, Nelson; 5.4 Azolla filiculoides, Chile, Looser; 5.5. Azolla mexicana, México, Rose. Tomado de Svenson (45).

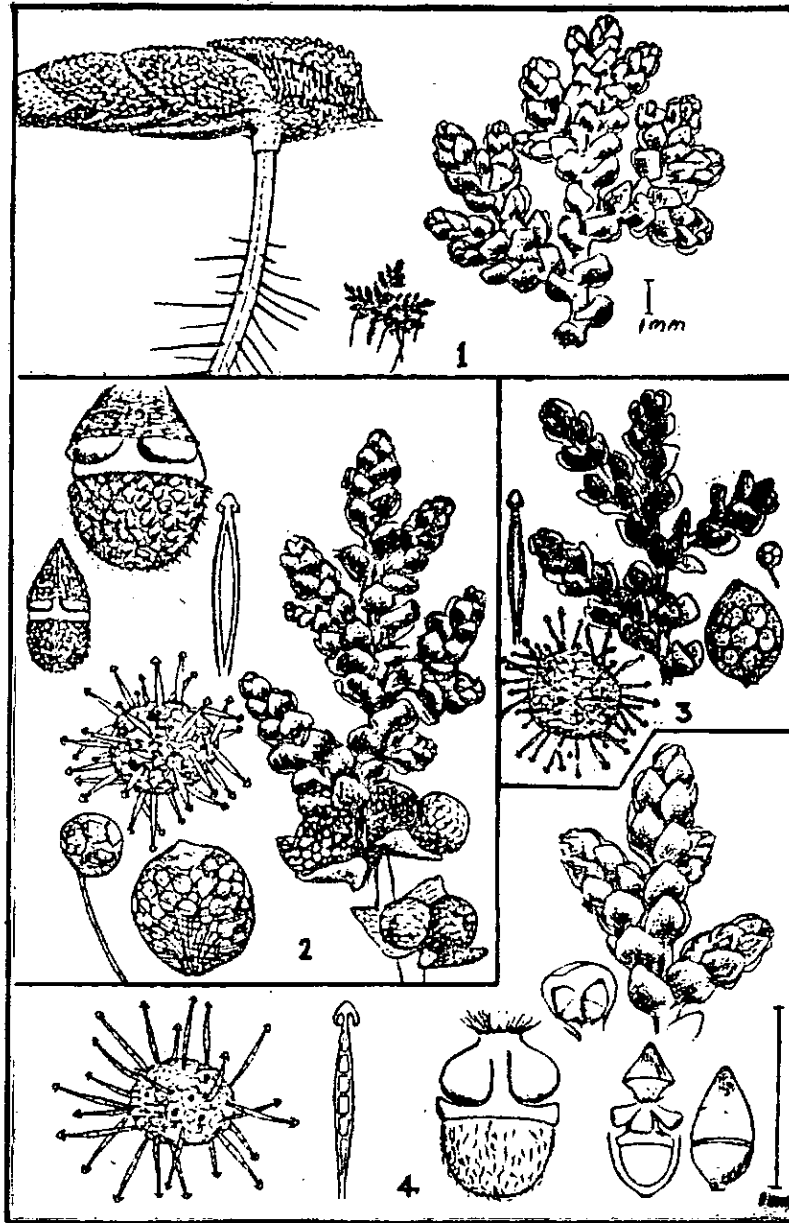
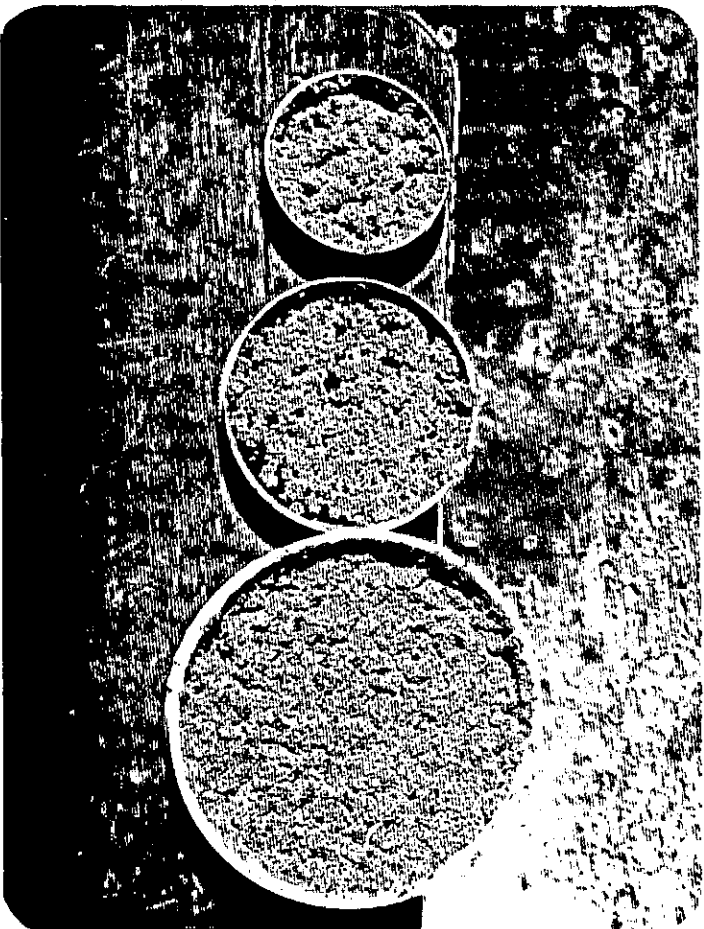


Fig. 6

Fig. 6.1 Azolla filiculoides de material vivo; 6.2. Azolla filiculoides, California, Wheeler; 6.3 Azolla caroliniana South Carolina, Tryon & Godfrey; 6.4. Azolla microphylla Galápagos Islas, Svenson. Tomado de Svenson (45).



Fotografía No. 2
Plantas del helecho Azolla microphylla Kaulf.
creciendo en medio controlado; recolectado en
Santiago Atitlán.



Fotografía No. 3
Plantas del helecho Azolla filliculoides Lam.
creciendo en ambiente natural; recolectado en
Km. 16.5 Col La Leyenda, San Pedro Ayampuc.

III.7 DESCRIPCION BOTANICA Y TAXONOMICA DE LAS ALGAS VERDE-AZULES

En la naturaleza la mayor parte de los organismos utiliza el nitrógeno combinado con elementos como el H y el O_2 y sólo es utilizado en forma libre (N_2) por un pequeño grupo de organismos del reino procariote, división 1 o sea las Cianobacterias (algas verde-azules) dentro del cual se incluye Anabaena spp. según menciona Aguilera (2).

Las algas verde-azules están formadas por plantas procariote es decir que carecen de núcleo, mitocondrias, dictiosomas y retículo endoplasmático (50). Sus cuerpos vegetales constan de células simples, filamentos cortos (tricomas) y forman colonias simples de varias formas. Las células se encuentran casi siempre encerradas en una envoltura mucilaginosa (50), y son plantas fotosintéticas que contienen clorofila (16). Además del helecho Azolla, el alga verde-azul Anabaena que vive dentro del helecho, específicamente en las cavidades de las hojas también juega un papel importante, es debido a que la fijación de N_2 es fotosensitiva (51). La utilización del alga Anabaena, como un biofertilizante en la producción de arroz, representa un sistema de autoaporte, desde el cual ellos pueden proveer fotosintéticamente la energía requerida para la fijación de N_2 (48). Lo anteriormente escrito lo confirma Roger y Kulasooriya (34), cuando citan que en los campos de arroz, uno de los más importantes recursos biológicos de nitrógeno combinado lo constituyen las algas verde-azules, a las que el género Anabaena pertenecen. Además poseen caroteno y dos pigmentos solubles en agua (ficobiliproteínas), ficocianina "C" y ficoeritrina "C". Acumulan como reserva almidón de cianofitas y algunas proteínas características. A veces son células no flageladas y no se ha detectado ninguna reproducción sexual (50).

La reproducción vegetativa de las formas filamentosas se produce por una fragmentación simple del filamento. La separación de esas células muertas produce filamentos cortos que tienen un movimiento de deslizamiento, esto les permite cambiar de posición en la masa mucilaginosa en que crecen y ampliar gradualmente la masa. Muchas especies filamentosas de las cianofitas tienen a veces, muchas células vivas dilatadas (heterocistos) que cuando se situan en el inferior parece que se asocian a la fragmentación de los filamentos y a la fijación del nitrógeno. Las algas verde-azules a las que pertenecen Anabaena, cuentan con esas células especiales con paredes gruesas que se llaman Heterocistos, que contienen la Nitrogenasa (7). Hasta donde se sabe la reproducción de las cianofitas procarióticas es vegetativa (50).

Las algas verde-azules carecen de raíces, tallos y hojas por lo que su cuerpo vegetal se conoce como Talo (16, 50).

La división de las algas se basa en gran parte en diferencias en los pigmentos, las reservas de alimentos y la ultraestructura de los cloroplastos, el tipo de flagelación y la composición química de las paredes celulares. La respiración aeróbica y la fotosíntesis definitivamente establecen a las algas verde-azules como una división. Sepa-

rada, la de las cianofitas (cianoficias) que se presenta como un grupo intermedio entre las bacterias procarióticas y las algas eucarióticas.

Las células de las cianofitas o cianoficias están relacionadas con formas procarióticas debido a la semejanza que guarda su mecanismo genético con el de las bacterias; contienen clorofila "a" que se localizan concentradas en la periferia de las células, lo cual se determina con estudios de fluorescencias; dicha clorofila "a" está asociada a membranas, que fotosintetizan un carbohidrato a partir de dióxido de carbono, agua y liberan oxígeno (50).

Las células de las algas verde-azules se deben clasificar como células procarióticas, en relación a su estructura interna, pero la fotosíntesis y la respiración que son aerobias, las hace pertenecer definitivamente a las algas (50).

III.8 DISTRIBUCION Y AMBIENTE DE LAS ALGAS VERDE-AZULES

Las algas son un grupo de plantas autotróficas muy diversas que crecen principalmente en aguas dulces, marinas (26), lugares semiacuáticos, estanques, pantanos, proliferan a la mayoría de los estanques semipermanentes, en los lagos y arroyos a lo largo de las costas marinas y en las aguas superficiales de los océanos (50). Las algas verde-azules necesitan oxígeno para la respiración y liberan oxígeno en la fotosíntesis, lo que las diferencia de las bacterias fotosintéticas anaerobias y las semeja a las plantas superiores (50).

Las algas verde-azules como todo organismo necesitan de ciertos factores para desarrollarse, los principales son: luz, agua, disponibilidad de elementos nutritivos inorgánicos. Todos requieren de energía radiante o luz solar para realizar proceso de fotosíntesis.

La temperatura es otro factor importante para su desarrollo; en aguas dulces la temperatura óptima para la mayoría de algas varía entre 15-25°C.

En sistemas de agua dulce, la mayoría de los recubrimientos superficiales se debe a algas verde-azules (16).

La tecnología para la multiplicación en masa del alga en campos ha sido desarrollada con óptima producción, a menudo dependiendo de una adecuada fertilización con P. (32). El inóculo de alga puede ser preparado en agua poco profunda en 2 semanas según Misra (29). La inoculación de alga verde-azul fijadora de nitrógeno hace un buen uso de su actividad de fijación atmosférica, dicha actividad envuelve una técnica delicada según Yamaguchi (51). La inoculación de alga puede dar a los agricultores el beneficio de aplicación de 25-30 Kg/N/Ha. como cita Venkataraman (48). Otros investigadores tales como Kannaiyan, Govindarajan y Lewin (23), concluyen que la adición de alga verde-azul dió en varias pruebas un efecto positivo sobre la producción.

III. 9 ANABAENA AZOLLAE, ESQUEMAS Y DIBUJOS

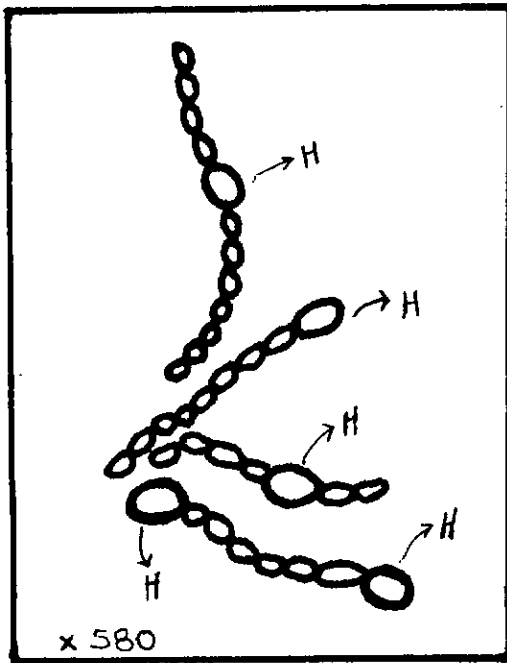


Fig. 7
Simbionte de Azolla pinnata
var. pinnata R. Br., mostran-
do los heterocistos (H).
Tomado de Becking and Donze (6).

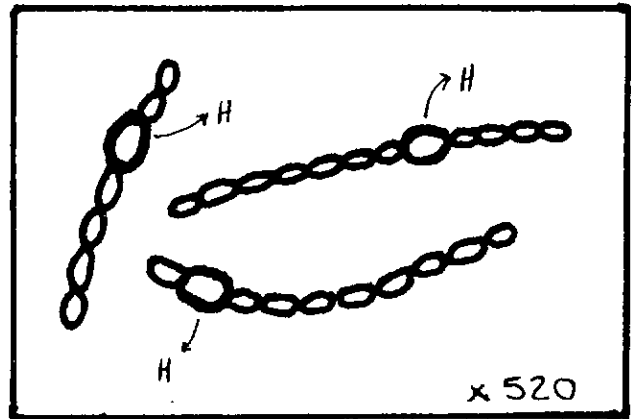


Fig. 8
Simbionte de Azolla filiculoides Lam
mostrando los heterocistos (H).
Tomado de Becking and Donze (6).

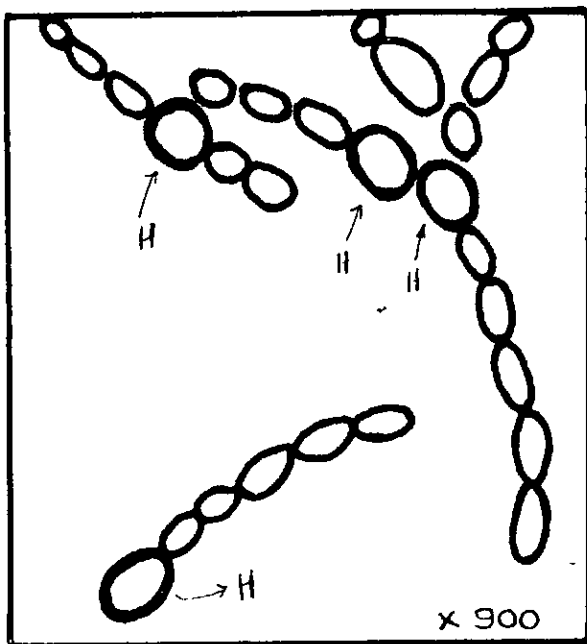


Fig. 9
Anabaena azollae filamentos de
Azolla filiculoides Lam de la
hoja número 5. Tomado de Becking
and Donze (6).

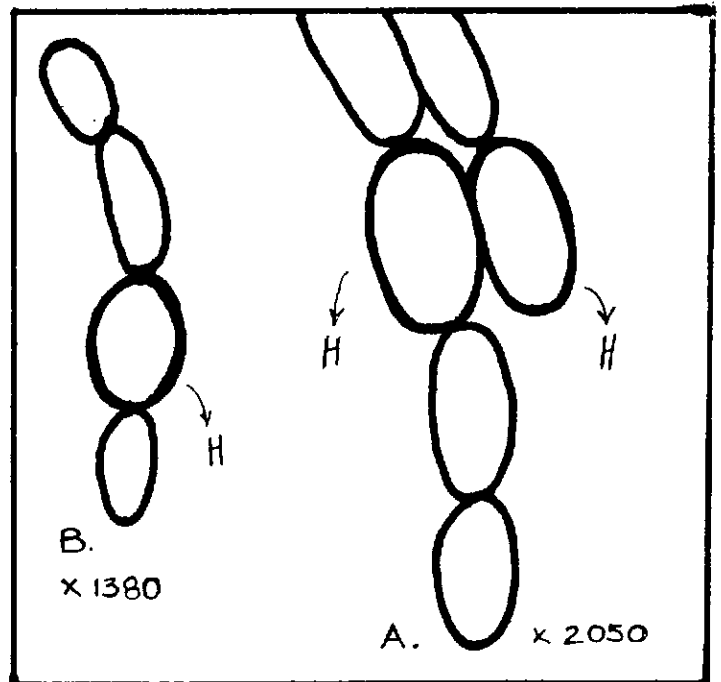


Fig. 10
Filamentos del simbionte de Azolla pin-
nata var. pinnata R. Br. mostrando los
heterocistos. A. Simbionte de la hoja
15 y B. Simbionte de la hoja 7.
Tomado de Becking and Donze (6).

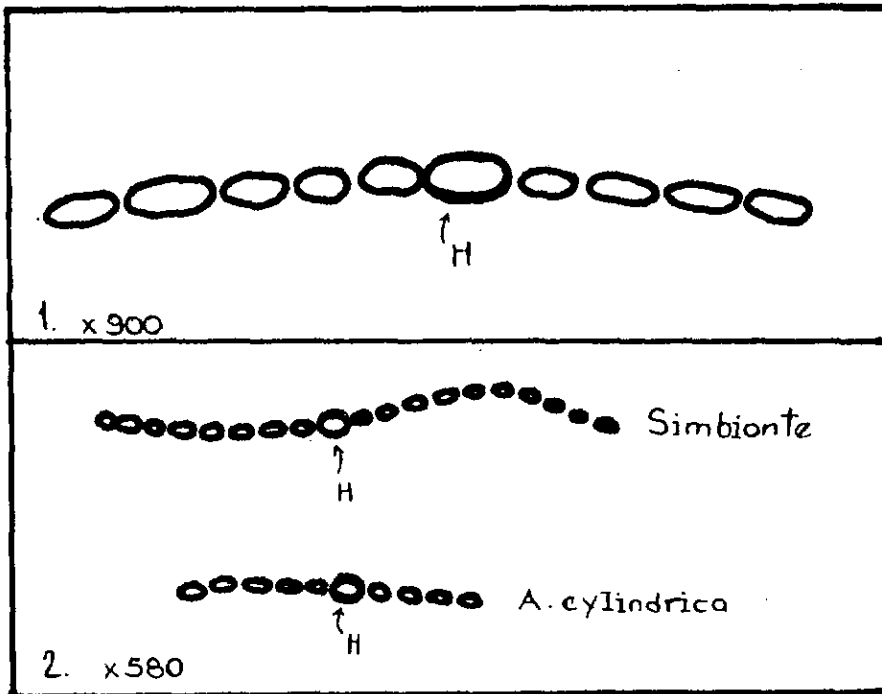


Fig. 11

Fig. 11.1 Simbionte de Azolla filiculoides Lam

11.2 Anabaena cylindrica de vida libre, se puede notar que el Simbionte es más grande que A. cylindrica de vida libre.

Tomado de Becking and Donze (6).

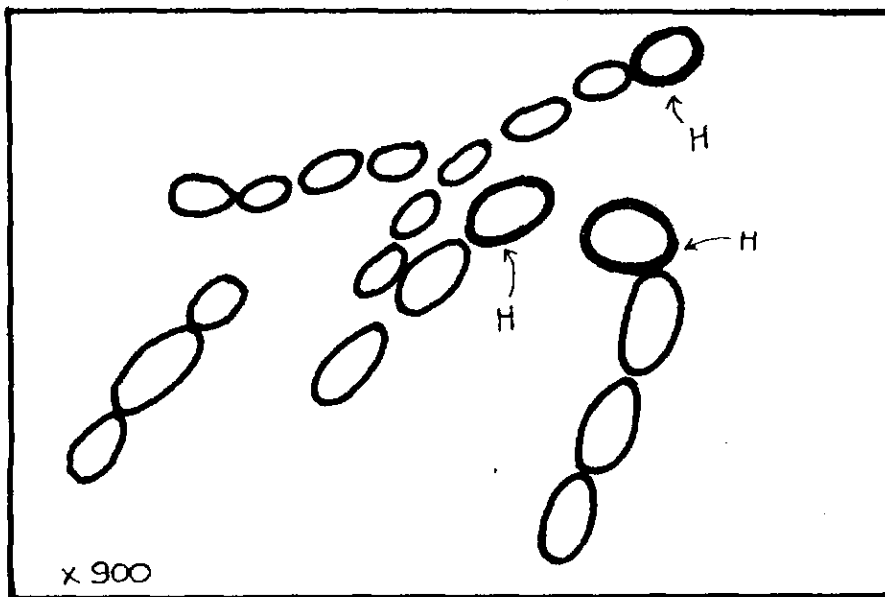


Fig. 12

Anabaena azollae filamentos, de Azolla pinnata var. pinnata R. Br., de la hoja número 18, pueden observarse los heterocistos. Tomado de Becking and Donze (6).

III.10 LA FUNCION BIOLOGICA DEL NITROGENO EN LA ASOCIACION AZOLLA-ANABAENA Y ALGUNOS BENEFICIOS A LA AGRICULTURA

La fijación del nitrógeno es, junto con la fotosíntesis y la respiración, el tercer proceso fundamental. Se ha calculado que en tierras de los U.S.A. se pierden anualmente 25×10^6 Tons. de nitrógeno. Se estima que para restaurar la fertilidad del suelo se regresan 3×10^6 Tons. de nitrógeno en forma de fertilizantes (abono, orina y fertilizante comercial) y una cantidad similar se recupera cuando la lluvia hidrata los óxidos de nitrógeno que se producen en la atmósfera con las tormentas eléctricas. Pero la cantidad más importante (10×10^6 Tons. de nitrógeno) se recupera mediante la fijación del nitrógeno efectuada por los organismos biológicos (10).

A la forma de fijación siombótica pertenecen todas aquellas formas de vida que necesitan del concurso de otros organismos para fijar el nitrógeno como es el caso específico del alga verde-azul Anabaena-azollae, que necesita del helecho acuático Azolla (2).

El heterocisto del alga Anabaena-azollae Strasb, se encuentra alojada en las cavidades, vesículas o estomas de la hoja del lóbulo dorsal del helecho acuático Azolla (2, 6, 7, 13, 18, 36). Este simbiote descrito por Strasburger en 1873, es capaz de fijar nitrógeno atmosférico y suplir al huésped con este elemento (6, 21).

Peter's en 1974, descubrió que era el alga y no el helecho, el que actualmente fija nitrógeno (17). La efectiva fijación del nitrógeno es debida a la capacidad del helecho acuático Azolla de una relación simbiótica con el alga Anabaena azollae (1, 2, 9, 13, 14, 15, 20, 21, 39, 44, 48). El exceso de nitrógeno fijado se puede excretar en la tierra o en el medio en que el microorganismo se desarrolla. Las algas verde-azules también excretan NH_3 , así como aminoácidos y péptidos. Si se excreta NH_3 en la tierra, se puede someter al proceso de Nitrificación, convirtiéndose rápidamente en ion nitrato, o bien lo puede utilizar otras formas vivientes (bacterias, suelo o plantas vivientes) incapaces de fijar nitrógeno. Es evidente que los componentes nitrogenados tienen idéntico destino cuando mueren los organismos no fijadores. De esta manera la tierra se fertiliza mediante la adquisición de NH_2 que proviene directamente de los sistemas fijadores de Nitrógeno e indirectamente cuando el átomo de nitrógeno realiza el ciclo en los aminoácidos y las proteínas de los fijadores de nitrógeno (10).

El nitrógeno fijado por el alga, no sólo permite el crecimiento del Azolla, sino también permite que al incorporar este helecho al suelo como abono verde, o sembrarlo junto a cultivos afines como arroz o maíz, sea una fuente valuable de nitrógeno orgánico, el cual es útil para las plantas (37, 44). La proporción de fijación de nitrógeno atmosférico por la simbiosis Azolla-Anabaena compite con la simbiosis efectuada por Rhizobium y las leguminosas (48), ya que dan como resultado apreciables cantidades de N_2 fijadas (15).

El helecho Azolla es importante debido a que puede proveer una ganancia generosa como fuente de biofertilizante nitrogenado a cualquier agricultor que tenga tierras húmedas, sin tener que comprar y transportar fertilizantes (17).

Beneficios que proporcionaría la utilización de Azolla en la Agricultura

- La reducción en la dependencia de fertilizantes químicos nitrogenado.
- Fuente de mucho valor de nitrógeno orgánico en cultivos como el arroz.
- Alternativas de utilización como abono orgánico de alto valor, en pequeñas áreas hortícolas.
- Proporciona la ventaja que adiciona carbón, otros minerales y nutriente para el suelo, actuando de este modo como una fuente de humus y acondicionador del suelo, ventaja que no presentan los fertilizantes químicos nitrogenados.
- Su uso en forma de abono verde, bioabono o materia orgánica como fertilizante puede darnos un incremento en la producción.
- Su uso como recurso natural no explotado y que es fuente de fijación de nitrógeno atmosférico, ayudando a mantener el balance de nitrógeno en el suelo.

En la India la asociación Azolla-Anabaena contribuye efectivamente con nitrógeno para la cosecha de arroz (39), Singh (37), menciona que la incorporación de Azolla al suelo fue comparada con la aplicación de fertilizante nitrogenado, siendo satisfactoria su aplicación. En otro artículo el mismo Autor (38), en la India, se obtuvieron incrementos en la producción de arroz cuando se utilizó a Azolla como abono.

En Thajavur, Tamil Nadu, India la aplicación de Azolla, corrigió la deficiencia de Zinc que existía en esa localidad, observándose una cosecha libre de deficiencia de Zinc (40).

En Norteamérica, diversos experimentos mostraron que, la incorporación de Azolla, al suelo antes de la siembra del arroz, dieron como resultado que Azolla, hiciera que la producción de arroz fuera el doble que el experimento testigo (31). Azolla es usado como abono verde sobre campos de arroz, y en ciertos casos cuando se transplanta Azolla, este reduce el crecimiento de malas hierbas por interferencia (22).

En Sri Lanka, experimentos realizados mencionan a Azolla como una buena fuente potencial de proteína para alimentación de ganado (1), en cerdos, patos y peces según Lumpkin (25).

En Indonesia, los residuos de Azolla, han formado una buena fuente de nitrógeno para las plantas de arroz, siendo esa fuente de nitrógeno un buen aporte para un buen crecimiento (21).

En Thailandia, fue evaluado el uso de Azolla, como sustituto de fertilizante nitrogenado en campos de arroz, pudiéndose notar que su uso fué comparable al que existe cuando se aplica fertilizante nitrogenado convencional (46). Debemos saber que la actividad de fijación biológica del N_2 es sugerida como uno de los principales factores de alta fertilidad según nos reporta Yamaguchi (51) en experimentos realizados en el Japón. La incorporación de Azolla al suelo luego de 20 - 30 días de maduración, proporciona un equivalente de 25 - 30 Kgs N/Ha (33).

Barthakur y Talukdar (3), señalan que la inoculación de los campos de arroz con 1 Ton., de Azolla fresco, luego de la siembra del arroz e incorporado Azolla después de 20 días incrementó la producción en un 38% en 1979 y en un 38% en 1980.

III.11 PAISES QUE ESTUDIAN LA ASOCIACION AZOLLA-ANABAENA E INFORMES DE GUATEMALA

Entre los países en los cuales se está utilizando Azolla o se están realizando estudios está: Nepal, Malasya, Malí, Indonesia, México, Senegal, Guinea, U.S.A., Conakry e Israel entre otros.

En Guatemala se han realizado hasta la fecha dos estudios sobre el helecho Azolla. Uno de ellos fué realizado por el Ph. D. Robert Stolze, el mismo menciona y describe dos especies de Azolla encontradas en Guatemala, pero el trabajo no detalla con certeza los lugares donde fueron encontrados los especímenes del helecho, por lo que para fines de este estudio no se logra mayor adelanto, no se puede confirmar su información. El trabajo del Ph. D. Stolze publicado en Agosto de 1983 en los U.S.A., se obtuvo en Guatemala hasta Agosto de 1985 por medio de la Doctora Elfriede de Poll y la Licda. Nury Díaz de la Escuela de Biología de la USAC, el cual es parte del tomo III de la Obra "Helechos de Guatemala". Se hace la salvedad que esta información no se encuentra en ninguna de las Bibliotecas del País y es conocida por reducido núcleo de personas afines al herbario de la Escuela de Biología.

El otro estudio sobre Azolla, fue una investigación de la Dra. Poll (30) en donde determina y describe en forma breve una especie del helecho Azolla, localizada en el Lago de Izabal; esta es sin duda la primera publicación realizada sobre este helecho en Guatemala. La determinación del espécimen se llevó a cabo mediante aspectos morfológicos y vegetativos debido a la no presencia de glochídias (28, 41, 42, 45).

IV. MATERIALES Y METODOS

- IV.1 Materiales
- IV.1.1 De campo:

Bolsas plásticas - Cajas Plásticas

Frascos de vidrio - Etiquetas

Lancha - Vehículo automotor

IV.1.2 De Laboratorio:

Prensa de madera - Papel periódico

Pinzas - Estereoscopio - Microscopio compuesto

Claves botánicas - Porta y Cubre Objetos

Sellador de Porta y Cubre Objetos

Gelatina Glicerizada

Cámara fotográfica montada en Microestereoscopio

Rollo fotográfico para Slides 135 mm. a color

IV.2 Metodología

IV.2.1 Selección de Zonas a muestrear

Las zonas se seleccionaron en base a lo citado por Brill (7), Majid y Khatun (27), Singh (37), Stolze (42), Svenson (45) y Mickel (28), que básicamente establecen que las fuentes de agua son lugares propios del habitat de Azolla, en función de esto se consideró propio del estudio iniciar el trabajo en los lugares y zonas de vida siguiente, según Holdridge (19).

<u>Lugar</u>	<u>Zonas de Vida Ecológica (19).</u>
Lago de Atitlán, alrededores de Panajachel y Santiago Atitlán	Bosque húmedo Montano Bajo Subtropical
Lago de Amatitlán	Bosque húmedo Subtropical (templado)
San Juan Sacatepéquez, Km. 38 camino a San Raymundo, Bosque Sasi	Bosque húmedo montano Bajo Subtropical
Río Los Esclavos	Bosque muy húmedo Subtropical (cálido)
Laguna de Atescatempa	Bosque Seco Subtropical
Lago de Guija	Bosque Seco Tropical
Lago de Izabal; El Estor localidad El Chupón	Bosque muy húmedo Subtropical (cálido)

Río Dulce, área cercana al puente y alrededores	Bosque muy húmedo Tropical
Río Pixcayá	Bosque húmedo Subtropical (templado)
Río Los Plátanos	Bosque húmedo Subtropical (templado)
Pequeño pantano; Km. 16.5 Col. La Leyenda, Camino a San Pedro Ayampuc	Bosque húmedo Subtropical (templado)
Río Sartún, a la altura de Modesto Méndez	Bosque muy húmedo Subtropical (cálido)
Puente San José, Km. 166 Carretera a Esquipulas, Chiquimula	Bosque Seco Subtropical

IV.2.2 Recolección de Muestras:

La recolección de muestras, se hizo luego de un reconocimiento de las zonas a recolectar, los cuales en su mayoría por tratarse de lagos y lagunas se utilizó lanchas de remo y de motor; no así en los ríos en donde se podía caminar por la orilla, luego de la obtención de las muestras, éstas se colocaron en bolsas plásticas, frascos de vidrio o cajas plásticas debidamente identificadas.

IV.2.3 Reconocimiento del Area:

El reconocimiento de cada Zona se hizo a través del caminamiento en las orillas de los diferentes lagos, lagunas y ríos muestreados, efectuando en cada punto tantos caminamientos como la topografía del terreno y fuentes de agua existentes lo permitían.

IV.2.4 Traslado de las Muestras:

El traslado de las muestras de material recolectado, se realizó en vehículo de transporte colectivo y/o particular, manteniendo todos los cuidados y normas que se usan en el manejo y manipulación de muestras vegetales vivos de habitat hídrico, tales como:

- Colocarlas en recipientes con alguna ligera mezcla sólida de tierra del habitat.
- Cambiar el agua constantemente para que exista una nueva entrada de posibles nutrimentos.

Para mantener el material preservado por un tiempo indefinido y documentar la investigación, se colocó el material en porta objetos en donde previamente se trató de quitarle la mayor porción de agua para evitar burbujas al colocar el cubre objetos.

El material al ser colocado secado en el porta objetos, se le adi

cionó como preservante gelatina glicerizada y luego cubierto con un cubre objetos y sellado con pintura selladora transparente. Otra parte se mantuvo viva para observar comportamiento y poder replicar algunas láminas.

IV.2.5 Identificación del Material:

La determinación del material, se efectuó usando las claves botánicas de Stolze (42), Svenson (45), Mickel (28) y por diferencias morfológicas vegetativas como lo citan Stanley (41), Stolze (42), Svenson (45), lo cual consiste en lo siguiente:

- a) Al recolectar el material una parte es introducida en papel absorbente, en este caso, papel periódico, cuidadosamente para dejar el material intacto y luego etiquetadas correctamente;
- b) Luego las hojas de papel periódico con el material fueron prensadas en una regla de madera;
- c) Las hojas de papel periódico fueron cambiadas dos veces para absorber la humedad que aún quedaba en el material y nuevamente etiquetadas correctamente;
- d) El material prensado estuvo depositado en un lugar donde la humedad relativa fue baja (5 - 8%).
- e) Luego de 15 días el material se secó completamente;
- f) El material vivo y herborizado se estudió para determinar la o las especies que podían corresponder, esto se dificultó debido a que los especímenes no eran fértiles. Para esta operación se utilizaron pinzas para disección y el microestereoscopio para comparar con las claves botánicas y hacer observaciones de aspectos vegetativos y morfológicos;
- g) Como el material no era fértil se etiquetó y se envió al Field Museum of Chicago con el especialista en helechos Dr. Robert Stolze por intermedio del herbario de la Escuela de Biología para la determinación y clasificación del material;
- h) Se tomaron fotografías de las láminas que contenían el helecho Azolla en un microscopio con cámara incorporada para observar sus estructuras y lograr con ello un mejor verdicto en la identificación del material, el que es infértil, lo cual hace más difícil su identificación con certeza.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación en este capítulo se presentan los resultados y discusión de los mismos. Dichos resultados se presentan en el siguiente

orden:

(1-1) a/
IDENTIFICACION

Familia Salvinaceae

Género: Azolla

Especie: caroliniana
Azolla caroliniana Willd

Lugar:
Lago de Izabal, El Estor,
localidad El Chupón

Son plantas comunmente de 0.5 cm. de largo, lóbulo superior de la hoja de 1.4 cm. largo. Planta de una a menos de media pulgada largo 0.5-1 cm. de diámetro, ramificación dicotómicamente, hojas pequeñas divaricadas (0.5 mm. largo), lisas uniformes, no estrictamente imbricadas. Debido a que el material era estéril, se tuvo mucho cuidado en las características vegetativas para poder afirmar, que probablemente se trata de Azolla caroliniana Willd, lo cual el Dr. Stolze expone que cuando un espécimen no es fértil la determinación de las especies no se logra con certeza.

HABITO

Plantas diminutas que forma densas cubiertas en la superficie de agua semiestancada o estancada a veces de varios centímetros de grueso. La planta tiene un tallo muy corto ramificado, cubierto por hojas alternas escuamiformes, dispuestas en dos filas.

Cada planta provista de una o varias raíces filiformes no ramificadas. Se encontró a los costados de la carretera que conduce a la orilla del lago aproximadamente a unos 20 mts. de ésta. Temperatura aproximada en ese punto 30-35°C., altura del agua 25-30 cms., con presencia de mucha M. Orgánica. Como consecuencia de descomposición de desechos orgánicos.
FECHA DE RECOLECTADA: 18 - 19 - 20 agosto de 1985.

(2-4)
IDENTIFICACION

Familia Salvinaceae

Género: Azolla

Especie: microphylla
Azolla microphylla Kaulf

Plantas pequeñas de 0.5 - 1.2 cm. largo, ramificación pinnada subdicotómica. El lóbulo superior de la hoja no imbricada, comunmente obtuso, frondoso, elíptico. El material era infértil, por lo que su determinación no se pudo realizar con certeza, pero por las características vegetativas y lo expuesto por el Dr. Stolze se dice que probablemente sea Azolla microphylla Kaulf.

a/ El primer número indica el orden de inicio, el segundo número indica el orden en que la recolección fue positiva, según cronograma de visitas (Anexo 1).

LUGAR:

Puente San José Km. 166
Carretera a Esquipulas
Chiquimula, en el río que corre bajo el puente.

HABITO:

Planta diminuta, no formando densas cubiertas en el agua, situadas a lo largo de la orilla en una longitud de 10-14 mts. aproximadamente, hojas dispuestas en pares, sostenidas en 2 hileras, las raicillas son simples filiformes, no ramificadas. Se encontró el helecho sobre rocas húmedas y otras flotando en el agua, algunas con disposición de crecimiento vertical, en la orilla del río, corrientes del agua semiestancada, de 20 cms. alto, con suelo arenoso y evidencia de desechos orgánicos y estiércol, en los alrededores presencia de algas y plancton.

FECHA DE RECOLECTADA: 4 de marzo de 1986.

(3-5)

IDENTIFICACION

Familia Salvinaceae

Género: Azolla

Especie: microphylla

Azolla microphylla Kaulf

Plantas pequeñas de 0.5 -1.2 largo, ramificación pinnada a subdicotómica. El lóbulo superior de la hoja no del todo imbricada es frondoso, elíptico y obtuso. Debido a que el material era infértil no se pudo determinar la especie con certeza; las características vegetativas observadas hacen suponer junto al informe del experto Dr. Robert Stolze que se trata de Azolla microphylla Kaulf.

LUGAR:

Santiago Atitlán, embarcadero Municipal a orilla del lago Atitlán.

HABITO

Plantas pequeñas, cubriendo la superficie del agua, junto a la planta Lemna. El helecho con diversas coloraciones desde verde a rojizo, esto último debido a la alta exposición a luz solar. El helecho Azolla se encontró localizado desde la orilla hasta 10 metros adentro del lago, la altura del agua aproximadamente donde se encontraba la Azolla fue de 3 cms. a 70 cms., las corrientes semiestancadas a estancadas, con evidente contenido de desechos orgánicos y alta Materia orgánica como producto de aguas servidas.

FECHA DE RECOLECTADA: 27 de junio de 1985 y 2, 3 y 4 de abril de 1986.

(4-7)

IDENTIFICACION

Familia Salvinaceae

Género: Azolla

Especie: filiculoides

Azolla filiculoides Lam

Plantas elongadas de 0.8 - 2 cms. de largo el lóbulo superior de la hoja es mas imbricado, elíptico, oblongo a ovalado, las hojas de los lóbulos superiores generalmente agudos o sub agudos, aún que a veces pueden encontrarse un número de lóbulos obtusos; ramificación pinnada a subdicotómica, generalmente por ramificación lateral del tallo. Debido a que el material era infértil se tomó como referencia el carácter vegetativo de las hojas de los lóbulos superiores que generalmente son agudos a subagudos con esto se determinó que probablemente se trata de Azolla filiculoides. En este sentido el Dr. Stolze, dice que probablemente se trate de Azolla microphylla, pero aún no se tiene certeza en esto.

LUGAR:

Km. 16.5 Colonia La Leyenda camino a San Pedro Ayampuc. Pequeño pantano, lado derecho de la ciudad a ésa.

HABITO:

Plantas flotando sobre la superficie del cuerpo acuático en regular cantidad, asociadas a gramíneas principalmente. Corrientes semiestancadas a estancadas, alimentadas al principio del cuerpo acuático por aguas limpias y en otro punto por agua no limpia, con evidencia de ser depósito de desechos orgánicos e inorgánicos. Se puede observar gran cantidad de M. Orgánica en el sector que sirve de depósito y que está fuertemente po luído, no así en el primer sector donde es limpio en un 85%; el suelo se presenta en el sector limpio con apariencia limosa, arenas y en partes circundantes alrededor del cuerpo acuático un tanto lodoso. Altura del agua en el lugar limpio y de recolección 5-10 cms. En época seca sólo el sector limpio se encuentra con presencia del helecho, en época lluvio sa ambos sectores cuentan con el helecho. El helecho presentaba coloraciones verdes en su mayoría y rojizo debido a alta exposición de luz solar. Algunas veces el helecho se encuentra creciendo sobre sustrato de suelo húmedo, cuando la densidad de la planta es alta y no existe suficiente espacio se observa un crecimiento vertical.

FECHA DE RECOLECCION: 30 de julio de 1985 y 5 de mayo de 1986.

(5-8)

IDENTIFICACION

Familia: Salvinaceae
Género: Azolla
Especie: microphylla
Azolla microphylla Kaulf

Plantas pequeñas de 0.5 - 2 cms. de largo, dichas plantas presentaban raicillas largas, ramificación pinna-da a subdicotómica, El lóbulo superior de la hoja no del todo imbricado, son frondosos, elípticos, comunmente obtu-sos. En su mayor parte cubierto. Ma-terial no fértil por lo que su determi-nación se realizó sin certeza, obser-vando características vegetativas como lóbulo superior hoja obtuso y tamaño planta, por lo que probablemente se trate Azolla microphylla, al igual que el informe extendido por el Dr. Robert Stolze.

LUGAR

Río Los Esclavos, Cuilapa
Santa Rosa, 500 mts. a la
izquierda de Guat.---Escla-
vos sobre el puente antiguo

HABITO

Plantas en su mayoría adheridas al sustrato suelo húmedo, creciendo a pleno sol, la mayor parte de coloración rojiza, las otras verdes, el suelo de apariencia lodosa con pequeña cantidad de arena de río, pocas veces creciendo sobre rocas parcialmente sumergidas en el agua. El sue-lo con gran cantidad de Material Orgánico, en algunos casos presencia de estiércol. Las corrientes del río son rápicas, pero tiene pequeñas en-tradas donde las corrientes se convierten en semiestancadas y en casos menos frecuentes en estancadas. Las plantas de Azolla se encontraban si-tuadas aproximadamente de la orilla del río hacia afuera del mismo 0.50 a 4 mts. En invierno es probable, al crecer el río, que las plantas sean llevadas hasta la verdadera orilla del río y éstas se encuentren flotando en el agua, quizá en una altura de agua de 10-20 cms.

El lugar de recolección fué exactamente 50 mts. a la izquierda sien-do de Guatemala -- Esclavos, por la entrada a la planta del Inde y ofici-nas de Inafor del lado del puente de piedra, sobre una carretera de ter-racería que da a un campo de futbol.

FECHA DE RECOLECCION: 15 de mayo de 1986.

En Guatemala se observó a plantas Azolla en atracaderos de embarca-ciones en el lago de Atitlán, Santiago Atitlán.

Otra de las observaciones realizadas en Guatemala, denotan que tan-to Azolla como Lemna son atacadas por insectos, que producen daño al pe-queño follaje provocando clorosis en ambos casos y dejando unas disminu-tas manchas blanquecinas en las pequeñas hojas. Las plantas de Azolla

no son utilizadas en ninguno de los lugares donde se encontró y más bien parece una maleza acuática.

La localización del helecho acuático Azolla en 4 distintas zonas de vida, denota que Azolla no se encuentra confinada a una zona de vida en particular; y, a pesar que estas zonas de vida tienen diferencias en las condiciones ecológicas, si se estableció en una forma preliminar que existen algunas características similares dentro de estas 4 zonas de vida que están ligadas a su localización, éstas fueron:

- Materia orgánica procedente de aguas servidas y como resultado de descomposición de desechos orgánicos, en los lugares donde se encontró el helecho.
- Presencia de desechos orgánicos e inorgánicos en los lugares donde se encontró el helecho.
- Corrientes de agua semiestancadas a estancadas, nunca corrientes rápidas.
- Asociada en un 40% a la planta acuática del género Lemna.

Otros factores que en el futuro deben considerarse para una investigación.

- Temperatura donde sea localizada
- Intensidad de luz solar
- Análisis Nutricional del sustrato acuoso en el que se encuentre el helecho
- Ph. del sustrato acuoso
- Asociación con otras plantas

Aunque los objetivos del trabajo estaban orientados sólo al helecho Azolla, se logró constatar a través de microfotografía de láminas preparadas de Azolla filiculoides y Azolla microphylla la existencia de alga Anabaena azollae que vive en simbiosis con el helecho Azolla.

Resumen de las Características más Importantes de los lugares Muestreados en la Investigación.

LUGARES	Estac. Meteorológicas	Tipo Estac. Meteor.	Elev. en mts. Estac.	Temp. med. p. anual	% hum. rel. me. día anual	Prof. del agua donde muest.	Elev. mts. s/ nivel mar, lugares muestreados	Zona de vida	Muest. posit.	Muest. negat.	Condiciones del Habitat
1. Lago Atitlán Panajachel	Santiago Atitlán. 19.19.4. PHC	B	1580	19.1	73.29	0-70	1500-2100	Bosque húmedo montano bajo subtrap.		-	En la orilla presencia de desechos orgánicos, basura y plantas acuáticas. No presencia del helecho, corrientes suaves y fuertes con oleajes, suelo arenoso y rocas de diversas tamaños.
2. Lago Atitlán Santiago Atitlán	Santiago Atitlán. 19.19.4 PHC	B	1580	19.1	73.29	0-70	1500-2100	Bosque húmedo montano bajo subtrap.	+		Plantas de Azolla cubren la superficie del agua, junto a plantas género Lemna. Helecho color verde y rojizo. Suelo donde se localizó Azolla con desechos orgánicos, apariencia de ser formada por aguas polvudas por diversos factores. Corrientes semi a estancadas.
3. Km. 38. Bosque San. Corret. Sn. Juan Sac.	San Martín Jilotepeque 3.11.1. PHC	B	1600	17.8	70.7	0.45	1500-2100	Bosque húmedo montano bajo subtrap.		-	Suelos arcillosos inundados por lluvia de invierno, vegetación variada. Presencia de algunos desechos orgánicos, corrientes del río adyacente rápidas con entradas de corrientes semiestancadas.
4. Río Pixcayó, camino Sn. Raymundo	San Martín Jilotepeque 3.11.1 PHC.	B	1800	17.8	70.7	0-20	1500-2100	Bosque hum. subtrap. (templado)		-	Corrientes rápidas con rocas distintos tamaños, vegetación en riberas pero no en la orilla del río, en lugar visitado no desechos ni basura, caudal fuerte.
5. Río Las Plátanos Gamina Aldes el Tabascal	San Pedro Ayampuc 6.12.1 PHC	B	1200	22.0	72.23	0-45	900- 1500	Bosque húmedo subtrap. (templado)		-	Corrientes muy rápidas, rocas diversos tamaños, desechos orgánicos y basura regular cantidad aguas servidas siendo consecuencia de contaminación, pero debido a las corrientes no se estancan y se lavan.
6. Pántano Km. 16.5 Col. La Leyenda, Sn. Pedro Ayampuc	San Pedro Ayampuc 6.12.1 PHC	B	1200	22.0	72.23	0-35	900-1500	Bosque húmedo subtrap. (cálido)	+		Plantas Azolla flotando sobre la superficie, corrientes semi a estancadas, evidencia de desechos orgánicos e Inorgánicos, alimentadas por aguas servidas dada contaminación, suelos limosos arenosos y en otro sector parecida a desagüe. Helecho verde rojizo en cantidad abundante.
7. Río Las Esclavas, Sta. Rosa	Las Esclavas 18.1.3 PHC	B	737	23.7	73.18	0-25	600- 900	Bosque muy hum. subtrap. (cálido)	+		Plantas creciendo a pleno sol adheridas al suelo húmedo y fangoso, con pequeñas arenas y piedras. Cantidad de material orgánico como estiércol en cantidad apreciable, corrientes rápidas semi a estancadas, Azolla en orilla.
8. Lago Atescatempa, Jutupa	El Guayabo Lago Guija 10.3.9 P.	B	490	27.2	74.4	0-15	600-900	Bosque seco subtropical		-	En lugar visitado presencia gramíneas, agua semiestancada, suelos con arenas finas, en alrededores cultivos como tomate, maíz. Agua de apariencia limpia. Poca desechos orgánicos e Inorgánicos.
9. Lago Guija Jutupa	El Guayabo Lago Guija 10.3.9 P	B	490	27.2	74.4	0-25	300- 600	Bosque seco tropical		-	Corrientes de agua semi a estancadas, pasto creciendo en la orilla, presencia de ganado y desechos de estiércol, temperaturas del agua y ambiente 28.33. Rocas grandes y pequeñas en la orilla.
10. Río Santón alt. Modesto Méndez	Mi Itz'atún Petén 11.9.5 PHC	B	10	26.7	81.9	0-50	0-300	Bosque muy hum. subtrap. (cálido)		-	Corrientes rápidas, mucho caudal, poca evidencia de desechos orgánicos ó basura como factor de contaminación suelos limosas, algunas similares o parecidas a Kartz sólo presencia de gramíneas en sector.
11. Río Dulce área cerca del puente	Las Vegas, Uvigmat, Ixcabal 8.3.6 PHC	B	10	26.8	80.5	0-15	0-300	Bosque muy húmedo tropical		-	Agua semiestancada, muchos desechos orgánicos (basuras, etc.), presencia de lemna en la población; en el río corrientes lentas a rápidas, no presencia de desechos o basuras. No aguas servidas como producto de contaminación por basuras o desechos.
12. Lago Izab. El Estor, Ixcabal, El Chupón				30.33	80.5	0-40	0-300	Bosque muy hum. subtrap. (cálido)	+		Plantas diminutas que cubren corrientes semiestancadas y estancadas, presencia de suelos de apariencia lodosa, como consecuencia de inundaciones y descomposición de ciertos elementos orgánicos.
13. Puente Sn. José, Km. 166 Esq. Chiq. carret. s/ río				25.26	70.75	0-20	0-600	Bosque seco subtrap.	+		Planta diminuta, localizada en la orilla del río en una franja de 10-20 mts. El helecho flotando y sobre sustrato húmedo, crecimiento vertical. Corrientes semi a estancadas; suelo arenoso y muchas piedras, desechos orgánicos como estiércol y algas.
14. Lago Amatitlán área ady. rolleto	Jard. Mil Flores	A	1189	19.0	86.6	0-70	700-1500	Bosque hum. subtropical (templado)		-	El lugar visitado denotaba presencia de desechos orgánicos e Inorgánicos, plantas acuáticas, algas, corrientes semiestancadas y estancadas, suelos arenosos y altas temperaturas del agua; posiblemente ocurre en regular cantidad.

• Datos tomados de Reportes aproximados del INSTVUMEH, debido a que contar con una Estación Meteorológica cercana al punto de observación.

VI. CONCLUSIONES

1. Se confirmó la existencia del helecho acuático Azolla y de que existe más de una especie en Guatemala.
2. En Guatemala, en los lugares visitados se encuentran posiblemente tres especies del helecho acuático Azolla: Azolla microphylla Kaulf. Azolla caroliniana Willd. Azolla filiculoides Lam.
3. La determinación y clasificación de especímenes de Azolla no se estableció con certeza, a través de los aspectos morfológicos y vegetativos, debido a que el material no era fértil.
4. Los especímenes del helecho acuático Azolla, generalmente se encuentran desarrollándose en lugares donde el agua está estancada o semiestancada con un alto contenido de materia orgánica procedente de aguas servidas y en descomposición de desechos orgánicos e inorgánicos, independiente de la zona ecológica en donde se encontró.

VII. RECOMENDACIONES

Se propone seguir en el futuro con la investigación del helecho acuático Azolla para encontrar en su oportunidad plantas fértiles lo que hará posible su determinación y clasificación con certeza. Esto contribuirá al estudio de la Flora Guatemalteca.

Al mismo tiempo conviene realizar estudios con respecto a la propagación y capacidad de Fijación de Nitrógeno atmosférico de las especies que se detallan en el presente estudio, estas investigaciones contribuirán grandemente en el uso de Azolla spp. como fuente de fertilizante nitrogenado en el cultivo de arroz y quizás algunos otros, ya que Azolla vive en Simbiosis con el alga verde-azul Anabena-azollae.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. ABEYRATNE, A.S. 1982. Experience of Sri Lanka in growing Azolla as livestock feed. *Asian Livestock* 7(1):6.

Resumido en: ABEYRATNE, A.S. 1981. Experience of Sri Lanka in growing Azolla as livestock feed. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(12):67.
2. AGUILERA MEJIA, R.G. s.f. La fijación de N₂ atmosférico por Rhizobium, su importancia y alternativas para Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía. 16 p.
3. APP, A.; EAGLESHAM, A. 1981. Biological nitrogen fixation problems and potential. *In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture.* Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali, Col. CIAT. P. 1-7.
4. BARTHAKUR, H.P.; TALUKDAR, H. 1983. Use of Azolla and commercial nitrogen fertilizer in Jorhat, India. *International Rice Research Newsletter (Philippines)* 8(1):20-21.

Resumido en: BARTHAKUR, H.; TALUKDAR, H.A. 1983. Use of Azolla and commercial nitrogen fertilizer in Jorhat, India. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 9(3):75.
5. BECKING, J.H. 1979. Environmental requirements of Azolla for use in tropical rice production. *In Symposium International Rice Research Institute.* (1978, Philippines). s.l., International Rice Research Institute. p. 345-373.

Resumido en: BECKING, J.H. 1981. Environmental requirements of Azolla for use in tropical rice production. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(6):100.
6. _____; DONZE, M. 1981. Pigment distribution and nitrogen fixation in *Anabaena azollae*. *Plant and Soil (Netherlands)* 61:203-226.
7. BRILL, W.J. s.f. Fijación biológica del nitrógeno atmosférico. s.n.t. 40 p.
8. BROTONEGORO, S. *et al.* 1981. Some experiments on the use of Azolla for rice production in Indonesia. *In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture.* Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali, Col. CIAT. p. 567-573.
9. CHU, L.C. 1979. Use of Azolla in rice production in China. *In Symposium on nitrogen and rice.* (1979, Philippines). s.l., International Rice Research Institute. p. 375-394.

Resumido en: CHU, L.C. 1981. Use of Azolla in rice production in China. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(6):100-101.

10. CONN, E.; STUMPF, P.K. 1977. *Bioquímica fundamental*. Trad. por Gabriel Velasco, Emiliano Cabrera. 3 ed. México, D.F., Limusa. 628 p.
11. DELWICHE, C.C. 1970. El ciclo del nitrógeno. s.n.t. p. 53-63.
12. FAO (Italy). 1981. Introductory notes on *Azolla africana*, an atmospheric nitrogen-fixing fern in irrigated rice culture. *International Rice Commission Newsletter (Italy)* 29(2):23-27.
Resumido en: FAO (Italy). 1981. Introductory notes on *Azolla africana*, an atmospheric nitrogen-fixing fern in irrigated rice culture. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(3):49-50.
13. FERRERA C., R. 1980. Preliminary study on *Azolla* sp. and aquatic fern with agronomic potential for the humid tropics of Mexico. *Revista Latinoamericana de Microbiología (México)* 22(4):171-174.
Resumido en: FERRERA C., R. 1981. Estudio preliminar de *Azolla* sp. un helecho acuático con potencial agronómico en el trópico húmedo mexicano. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(7):57.
14. _____. 1983. Comentarios sobre la fijación biológica del nitrógeno. I. *Azolla*: Una fuente de nitrógeno para el campo mexicano. *Boletín Informativo; Comité nacional de fijación biológica de nitrógeno. (México)* 1(1):5-6.
15. _____.; MIRANDA ROMERO, A. 1981. Propagation of an *Azolla* spp. and its potential as a green manure for corn in Mexico. *In* *Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture*. Ed. by Graham, P., Harris, S. Cali, Col. CIAT. p. 561-564.
16. FLORIDA. SERVICIO COOPERATIVO DE EXTENSION DE LA FLORIDA. 1983. *Algas: Biología y control*. *Agricultura de las Américas (EE.UU.)* 32(2):28-30,49.
17. FRANDA, M. 1980. Kettering's nitrogen fixers. EE.UU. American Universities Field Staff. Report no. 15. p. 5-9.
18. GALSTON, A.W. 1975. The water fern-rice connection. *Natural History (EE.UU.)* 84(10):10-11.
19. HOLDRIDGE, L.R. 1982. *Ecología basada en zonas de vida*. Trad. por Humberto Jiménez. San José, C.R., IICA. 216 p.
20. HOLST, R.W.; YOPP, J.H. 1979. Effect of various nitrogen sources on growth and the nitrate-nitrite reductase system of the *Azolla mexicana* *Anabaena azollae* symbiosis. *Aquatic Botany (Netherlands)* 7(4): 359-367.

Resumido en: HOLST, R.W.; YOPP, J.H. 1980. Effect of various nitrogen sources on growth and the nitrate-nitrite reductase system of the *Azolla mexicana*-*Anabaena azollae* symbiosis. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(7):49.

21. INDONESIA. CENTRE FOR TROPICAL BIOLOGY. 1979. The effect of *Azolla pinnata* R. Br. on rice growth. Biotrop Bulletin (Indonesia) no. 11:193-200.

Resumido en: INDONESIA. CENTRE FOR TROPICAL BIOLOGY. 1980. The effect of *Azolla pinnata* R. Br. on rice growth. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(8):75.

22. JANIYA, J.D.; MOODY, K. 1981. Weed suppression in transplanted rice with *Azolla pinnata* R. Br. International Pest Control (UK) 23(5):136-137.

Resumido en: JANIYA, J.D.; MOODY, K. 1981. Weed suppression in transplanted rice with *Azolla pinnata* R. Br. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(8):88.

23. KANNAIYAN, S.; GOVINDARAJAN, K.; LEWIN, H.D. 1982. Influence of blue green algal application on rice crop. Madras Agricultural Journal (India) 69(1):1-5.

Resumido en: KANNAIYAN, S.; GOVINDARAJAN, K.; LEWIN, H.D. 1982. Influence of blue green algal application on rice crop. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 8(11):76.

24. LI, Z.; ZU, S.; MAO, M. 1982. Study on the utilization of eight *Azolla* species in agriculture. 1. An investigation of their utilization properties. Scientia Agricultura Sinica (China) no. 1:19-27.

Resumido en: LI, Z.; ZU, S.; MAO, M. 1982. Study on the utilization of eight *Azolla* species in agriculture. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 8(1):112.

25. LUMPKIN, T.A. 1981. Chinese technology for the cultivation of *Azolla*. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali, Col. CIAT. p. 537-548.

26. _____ . et al. 1981. The effect of species of *Azolla* under three management practices on the yield of paddy rice. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali, Col. CIAT. p. 549-553.

27. MAJID, F.Z.; KHATUN, R. 1980. Availability of nitrogen fixing blue-green algae in the rice fields of some districts of Bangladesh in different seasons. Current Science (India) 49(4):146-147.

Resumido en: MAJID, F.Z.; KHATUN, R. 1980. Availability of nitrogen fixing blue-green algal in the rice fields of some districts of Bangladesh in different seasons. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(7):48.

28. MICKEL, J.T. s.f. Ferns and fern allies. Iowa, Dubuque, s.n. p. 60-61.
29. MISRA, R.V. 1979. Raising blue green algae is easy. Intensive Agriculture (India) 26(2):14-15.
- Resumido en: MISRA, R.V. 1980. Raising blue green algae is easy. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(1):51.
30. POLL, E. DE. 1983. Contribución al estudio de la flora de Guatemala; plantas acuáticas de la región de El Estor, Izabal. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Fitopublicaciones no. 2. p. 8-9.
31. RAINS, D.W.; TALLEY, S.N. 1979. Use of Azolla in North America. In Symposium on nitrogen and rice. (1979, Philippines). s.l., International Rice Research Institute. p. 419-431.
- Resumido en: RAINS, D.W.; TALLEY, S.N. 1981. Use of Azolla in North America. Abstracts on Tropical Agriculture 7(6):101.
32. RANGASWAMI, G. 1981. Research and development for biological nitrogen fixation in India. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali Col. CIAT. p. 683-686.
33. REYNAUD, P.A. 1981. The use of Azolla in West Africa. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali, Col. CIAT. p. 565-566.
34. ROGER, P.A.; KULASOORIYA, S.A. 1980. Blue-green algae and rice. International Rice Research Institute (Philippines). p. 119.
- Resumido en: ROGER, P.A.; KULASOORIYA, S.A. 1981. Blue-green algae in rice. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(7):72.
35. ROSSWALL, T. 1982. Microbiological regulation of the biogeochemical nitrogen cycle. Plant and Soil (Netherlands) 67:15-34.
36. SINGH, P.K. 1977. Multiplication and utilization of fern Azolla containing nitrogen-fixing algal symbiont as green manure in rice cultivation. Riso (Italy) 26(2):125-137.
- Resumido en: SINGH, P.K. 1977. Multiplication and utilization of fern Azolla containing nitrogen-fixing algal symbiont as green manure in rice cultivation. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 3(10):92.

37. _____. 1977. Effect of Azolla on the yield of paddy with and without application of N fertilizer. *Current Science (India)* 46(18): 642-644.
- Resumido en: SINGH, P.K. 1978. Effect of Azolla on the yield of paddy with and without application of N fertilizer. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 6(7):48.
38. _____. 1980. Introduction of green Azolla biofertilizer in India. *Current Science (India)* 49(4):155-156.
- Resumido en: SINGH, P.K. 1980. Introduction of green Azolla biofertilizer in India. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 6(7):48.
39. _____. 1979. Use of Azolla in rice production in India. In *Symposium on nitrogen and rice. (1979, Philippines)*. s.l., International Rice Research Institute. p. 407-418.
- Resumido en: SINGH, P.K. 1981. Use of Azolla in rice production in India. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(6):101.
40. SRINIVASAN, S. 1981. Azolla manuring rectifies zinc deficiency. *International Rice Research Newsletter (Philippines)* 6(3):22-23.
- Resumido en: SRINIVASAN, S. 1981. Azolla manuring rectifies zinc deficiency. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(9):81.
41. STANLEY, T.D. 1982. Plantas acuáticas, informe australiano sobre malezas de importancia mundial. *Agricultura de las Américas (EE.UU.)* 31 (6):24-25.
42. STOLZE, R. 1983. Ferns and fern allies of Guatemala. (EE.UU.) *Field Museum of Natural History. Fieldiana Botany, New Series* no. 12. 68 p.
43. STRASBURGER, E. et al. 1971. *Lehrbuch der botanik*. Stuttgart, Deutschland, Gustav Fisher Verlag. 842 p.
44. SUBUDHI, B.P.; WATANABE, I. 1979. Minimum level of phosphate in water for growth of Azolla determined by continuous flow culture. *Current Science (India)* 48(24):1065-1066.
- Resumido en: SUBUDHI, B.P.; WATANABE, I. 1980. Minimum level of phosphate in water for growth of Azolla determined by continuous flow culture. *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 6(7):47.
45. SVENSON, H.K. 1944. The new world species of Azolla. *American Fern Journal (EE.UU.)* 34(3):69-84.

46. SWATDEE, P.; SEETANUM, W. 1979. Azolla as nitrogen source for rice in northeast Thailand. International Rice Research Newsletter (Philippines) 4(5):24.

Resumido en: SWATDEE, P.; SEETANUN, W. 1980. Azolla as nitrogen source for rice in northeast Thailand. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(10):77.

47. TUAN, D.T.; THUYET, T.Q. 1979. Use of Azolla in rice production in Vietnam. In Symposium on nitrogen and rice (1979, Philippines). s.l., International Rice Research Institute. p. 395-405.

Resumido en: TUAN, D.T.; THUYET, T.Q. 1981. Use of Azolla in rice production in Vietnam. Abstracts on Tropical Agriculture 7(6): 101.

48. VENKATARAMAN, G.S. 1979. Algal inoculation in rice fields. In Symposium on nitrogen and rice. (1979, Philippines). s.l., International Rice Research Institute. p. 311-321.

Resumido en: VENKATARAMAN, G.S. 1981. Algal inoculation in rice fields. Abstracts on Tropical Agriculture 7(6):100.

49. WATANABE, I.; BAI, K.Z.; BERJA, N.S. 1981. The Azolla-Anabaena complex and its use in rice culture. Philippines. International Rice Research Institute. Research Paper Series no. 69. p. 11.

Resumido en: WATANABE, I.; BAI, K.Z.; BERJA, N.S. 1982. The Azolla-Anabaena complex and its use in rice culture. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 8(4):81.

50. WEIR, T.E.; STOCKING, G.R.; BARBOUR, M.C. 1979. Botánica. Trad. por Agustín Contin. 5 ed. México, D.F., Limusa. 741 p.

51. YAMAGUCHI, M. 1979. Biological nitrogen fixation in flooded rice field. In Symposium on nitrogen and rice. (1979, Philippines). s.l., International Rice Research Institute. p. 193-204.

Resumido en: YAMAGUCHI, M. 1981. Biological nitrogen fixation in flooded rice fields. Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(6):100.

Vo. Pto.

Patruelle

Nombre: Sergio Leonel Cardona Barrios.
Carnet: 78-00704.



IX. ANEXOS

ANEXO No. 1

CRONOGRAMA DE VISITAS Y RECOLECCION

<u>LUGAR</u>	<u>HABITAT</u>	<u>FECHA DE RECOLECCION Y VISITAS</u>	<u>PRESENCIA DEL HELECHO</u>
1. Lago de Izabal El Estor localidad El Chupón	Plantas diminutas que cubren la superficie de aguas semiestancadas o estancadas. Se localizó a los costados de la carretera que conduce a la orilla del lago como a 20 metros de ésta. Temperatura en el lugar 30-35°C, altura del agua 20-30 cm. presencia de mucha Materia Orgánica, debido a descomposición de material orgánico.	18,19,20 de Agosto de 1985	Positivo Posiblemente <u>Azolla caroliniana</u> . Lam
2. Río Sarstún a la altura de Modesto Méndez	Corrientes rápidas de agua, caudal muy grande. Poca evidencia de Materia Orgánica, presencia del helecho muy remota bajo esas condiciones, quizá en una parte donde la corriente sea más leve o se estanque parcialmente suelos muy limosos y algunos parecidos a Kartz.	20 y 21 de Noviembre de 1985	Negativo
3. Río Dulce, área cercana al puente y alrededores	Presencia agua semiestancada, con muchos desechos orgánicos, poca Materia orgánica; presencia de la planta acuática del género <u>Lemna</u> que está asociada a <u>Azolla</u> , estas condiciones se dieron en los alrededores de la población, debajo de casas del sector visitado; en el puente y río corrientes de semi a rápidas no Materia orgánica.	22 de Noviembre de 1985	Negativo
4. Puente Sn. José Km. 166 carretera a Esquipulas, en el río que	Planta diminuta, situada a lo largo de la orilla del río en una longitud de 10-19 mts. El helecho sobre rocas húmedas y o-	4 de marzo 1986	Positivo Posiblemente <u>Azolla microphylla</u> Kaulf

LUGAR	HABITAT	FECHA DE RECOLECCION Y VISITAS	PRESENCIA DEL HELECHO
4. corre bajo el puente	tras flotando en el agua, algunas creciendo verticalmente. Corriente del río semi a estancadas en las orillas, suelo arenoso con piedra de río. De sechos orgánicos, estiércol y algas presente.		
5. Santiago A-titlán, embarcadero municipal en orilla lago de Atitlán	Plantas pequeñas, cubriendo el cuerpo acuático donde se localizaron junto a la planta acuática del género Lemna. El helecho con coloraciones verdes y rojizas, la último debido a exposición a luz solar. Se encontró el helecho 10 mts. adentro del lago, altura del agua 3 a 70 cms. corrientes semiestancadas a estancadas, con evidencia de desechos orgánicos.	27 de junio de 1985 2,3,4 de abril de 1986	Positivo Posiblemente <u>Azolla microphylla</u> Kaulf
6. Panajachel y alrededores	En la orilla, presencia de desechos orgánicos, basura y plantas acuáticas diversas. No presencia del helecho, corrientes igual a los de playa con oleaje, suelos con arena diversa y rocas de diversos tamaños.	28 de junio de 1985 y 4,5, de abril de 1986	Negativo
7. Km.16.5 Col. La Leyenda, Camino a San Pedro Ayampuc, pequeño pantano abajo de un pequeño puente	Plantas flotando sobre la superficie del agua, corrientes semiestancadas a estancadas, evidencia de desechos orgánicos y basura. Suelos con apariencia limosa arenas y en algunos un tanto lodoso. Altura del agua en el lugar de recolección 5-10 cms., coloraciones del helecho verde y rojizo, este último debido a poco espacio, y regularmente cuando se encontró en sustrato suelo húmedo.	30 de julio de 1985 y 5 de mayo de 1986	Positivo Posiblemente <u>Azolla filiculoides</u> Lam

LUGAR	HABITAT	FECHA DE RECOLECCION Y VISITAS	PRESENCIA DEL HELECHO
8. Río los Esclavos Cuilapa, Sta. Rosa 500 Mts. a la izquierda del Puente antiguo de Guate. a los Esclavos	Plantas en su mayoría adheridas a suelo húmedo creciendo a pleno sol, la mayoría de color rojizo, otras verdes, suelo apariencia lodosa con pequeña cantidad de arena de río, pocas veces creciendo sobre rocas con agua. Gran cantidad de M. Orgánica. Presencia de estiércol. Corrientes rápidas en el centro, en las orillas y entradas semiestancadas a estancadas; plantas de <u>Azolla</u> desde la orilla hasta 4 mts. adentro.	15 de mayo de 1986	Positivo Posiblemente <u>Azolla microphylla</u> Kaulf
9. Lago de Guija, Jutiapa	Corrientes semiestancadas a estancadas en las entradas del lago; temperatura del agua y del ambiente aproximadamente 28-33°C., a los alrededores del sitio visitado. Presencia de ganado y estiércol. Pasto creciendo en la orilla, rocas pequeñas y grandes. No presencia de <u>Azolla</u> en ese sector, según Stolze hay <u>Azolla</u> en el lago.	21 de mayo de 1986	Negativo
10. Laguna de Atescatempa, Jutiapa	En la orilla de la laguna presencia de gramíneas, casi siempre pastos; agua semiestancada sin oleaje; suelos con arenas finas; en los alrededores cultivo de tomate, maíz, etc., no presencia de <u>Azolla</u> el agua en este lugar de apariencia limpia, no hay gran cantidad de (Materia Orgánica), desechos.	22 de mayo de 1986	Negativo
11. San Juan Sacatepéquez, Km.38, Ca	Situado en los alrededores de un puente, con suelos bastante arcillosos; en invierno aparente inundación	3 de julio de 1985 y 3 de junio de 1986	Negativo

LUGAR	HABITAT	FECHA DE RECOLECCION Y VISITAS	PRESENCIA DEL HELECHO
mino a Sn. Ray mundo Bosque Sasi	con pequeños cuerpos de agua. Vegetación variada. Presencia de Materia Orgánica y desechos. Corrientes del río alrededor rápidas, algunas entradas del mismo con corrientes semi estancadas. No presencia de Azolla.		
12. Río Pixcayá	No presencia de <u>Azolla</u> , corrientes rápidas con rocas de diversos tamaños, vegetación en las riberas más no en la propia orilla debido a la velocidad del caudal. No gran cantidad de materia Orgánica, no desechos orgánicos ni inorgánicos.	26 de septiembre de 1985 y 22 de junio de 1986	Negativo
13. Río Los Plátanos	No presencia del helecho <u>Azolla</u> ; corrientes muy rápidas, rocas grandes en algunos puntos del lugar visitado. No materia orgánica, desechos orgánicos diversos en cantidad regular.	24 de septiembre de 1985 y 24 de junio de 1986	Negativo
14. Lago de Amatitlán	Los sitios visitados, con corrientes semiestancadas a estancadas, presencia de plantas acuáticas y algas. Materia orgánica suficiente en cantidad regular, muchos desechos orgánicos e inorgánicos. Temperatura del agua muy elevada caliente. No presencia del helecho Azolla.	11 y 12 de agosto de 1985 y 12 de julio de 1986	Negativo

ANEXO No. 2

**FIELD MUSEUM
OF NATURAL HISTORY**

14 Mar 86

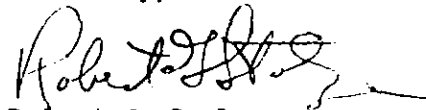
Dr. Ava Nury Diaz
Universidad de San Carlos
Av. de La Reforma 0-63
Zona 10
Guatemala, Guatemala

Dear Dr. Nury,

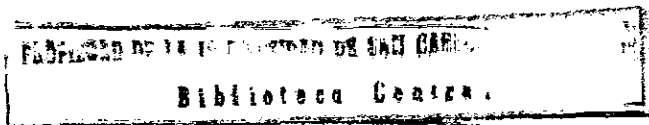
Since the specimen of Azolla you sent to me for identification is sterile, it is not able to be determined with certainty. Positive identification is possible only when sporocarps are present. However, I would guess that your specimen is A. microphylla Kaulf. I assume that this fern was collected somewhere in Guatemala? If so, then the only other possibility would be A. filiculoides Lam., which tends to have its upper leaves larger and more acute. Therefore I believe we can safely assume that this collection is A. microphylla.

I am pleased to cooperate with you in this manner.

Sincerely,



Robert G. Stolze
Collection Manager
Pteridophytes



ANEXO No. 3

**FIELD MUSEUM
OF NATURAL HISTORY**

16 July 1986

Dr. Ava Nury Diaz
Univ. de San Carlos
Av. de la Reforma 0-63
Zona 10
Guatemala City

Dear Dr. Nury:

I am unable to provide positive identification of your Azolla specimens, since none of them bear sporangia. As you probably know, only fertile specimens can be identified with certainty. However, from the small size of the plants, and the obtuse upper lobes, I would guess that all five may be Azolla microphylla Kaulf.

Sincerely yours,



Robert G. Stolze
Custodian
Pteridophyte Herbarium

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

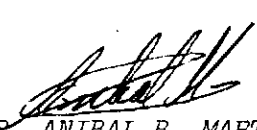
Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA.

Referencia
Asunto

"IMPRIMASE"




ING. AGR. ANIBAL B. MARTINEZ M.
D E C A N O