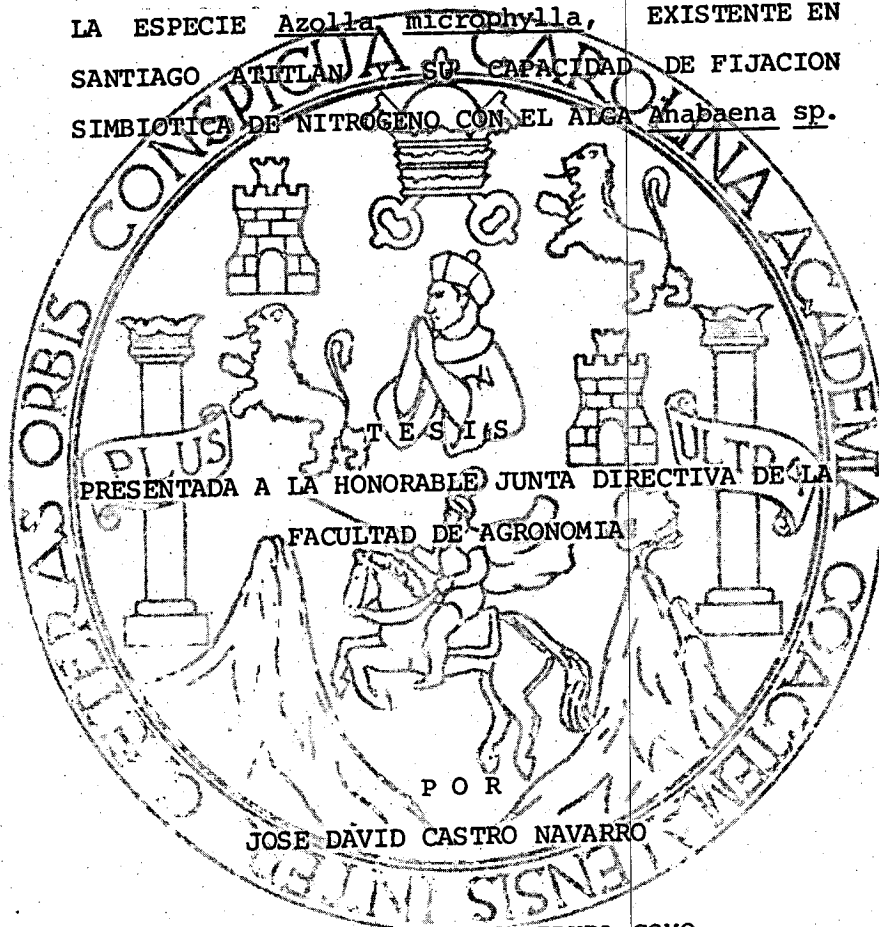


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

BIBLIOTECA CENTRAL-USAC
DEPOSITO LEGAL
PROHIBIDO EL PRESTAMO EXTERNO

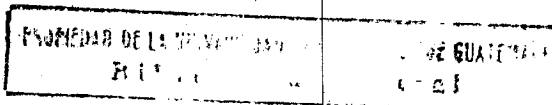
EVALUACION DE LA PRODUCTIVIDAD DEL HELECHO DE
LA ESPECIE Azolla microphylla, EXISTENTE EN
SANTIAGO AQUITLAN Y SU CAPACIDAD DE FIJACION
SIMBIOTICA DE NITROGENO CON EL ALGA Anabaena sp.



EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERO AGRONOMO
EN SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO
LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

DIGITALIZADO

Guatemala, marzo de 1,990.



DL
01
T(1150)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

R E C T O R

LIC. RODERICO SEGURA TRUJILLO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Ing. Agr. Aníbal Bartolomé Martínez Muñoz
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. Gustavo Méndez
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. Efraín Medina
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. Wotzbeli Méndez
VOCAL CUARTO	P.A. Hernán Perla
VOCAL QUINTO	P.A. Julio López Maldonado
SECRETARIO	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Guatemala,

5 de marzo de 1990.

Ing. Agr.

Hugo A. Tobías V.

Director del IIA

Facultad de Agronomía, USAC.

Ingeniero Tobías:

De manera atenta me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que en esta fecha he finalizado la asesoría del trabajo de investigación que el estudiante JOSE DAVID CASTRO NAVARRO, carnet No. -- 82-12542, realizo como punto de tesis para graduarse de Ingeniero Agrónomo, misma que fue titulada así: EVALUACION DE LA PRODUCTIVIDAD DEL HELECHO DE LA ESPECIE *Azolla microphylla*, EXISTENTE EN SANTIAGO ATITLAN Y SU CAPACIDAD DE FIJACION SIMBIOTICA DE NITROGENO CON EL ALGA *Anabaena sp.*

El trabajo realizado forma parte del conjunto de trabajos sobre fijación biológica de nitrógeno que actualmente se desarrollan dentro de un programa y objetivos definidos. El trabajo en si contribuye sustancialmente al conocimiento que se desarrolla en este tema por lo que recomiendo su aprobación e impresión al cumplir con los requisitos que establece la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. M. Sc. Rolando Aguilera
Profesor de Microbiología de la USAC.
Colegiado 157.

Referencia
Asunto

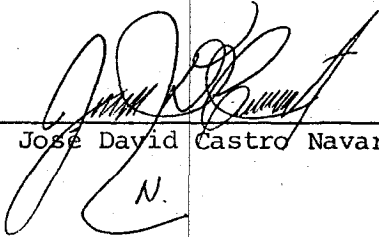
Guatemala,
Febrero de 1,990

Señores
Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Presente.

Señores:

De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado: "EVALUACION DE LA PRODUCTIVIDAD DEL HELECHO DE LA ESPECIE Azolla microphylla, EXISTENTE EN SANTIAGO ATITLAN Y SU CAPACIDAD DE FIJACION SIMBIOTICA DE NITROGENO CON EL ALGA Anabaena sp., como requisito previo a optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo, en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Atentamente,


P.C. José David Castro Navarro

JDC/cam

cc: 1

ACTO QUE DEDICO

A DIOS Y A NUESTRA SEÑORA SANTA ANA

A MIS PADRES	Mario Moises Castro y Lidia de Castro
A MIS HERMANOS	Mario Moises, Hugo Rolando Oscar Gabriel y Reyna Isabel
A MIS CUÑADOS	Dora, Beatriz, Lourdes y Norbert
A MIS SOBRINOS	Gabriela, Kara, Pamela, Hugo, Cristofer, Jeremy, Marlon y Amir
A MI NOVIA	Julia María García Rodriguez
A LAS FAMILIAS	Burgos Orrego y García Rodriguez
A MIS AMIGOS	Fredy Rivera y Bernardo Zamora
A MIS COMPAÑEROS UNIVERSITARIOS	
EN ESPECIAL:	Roberto Muñoz, Luis Tello, Rolando Acevedo y Gustavo Morales.

TESIS QUE DEDICO

A

MI PATRIA GUATEMALA

A

CHIMALTENANGO, CHIMALTENANGO

A

LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A

LA FACULTAD DE AGRONOMIA

A

LA ESCUELA DE CIENCIAS COMERCIALES
"Leonidas Mencos Avila", CHIMALTENANGO

AL

COLEGIO DE LA SALLE, ANTIGUA GUATEMALA,
SACATEPEQUEZ.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	i
I INTRODUCCION	01
II JUSTIFICACION	02
III HIPOTESIS	03
IV OBJETIVOS	04
V REVISION BIBLIOGRAFICA	05
1. Alternativa prometedora para la fijación biológica del nitrógeno	05
2. Descubrimiento y uso histórico del helecho <u>Azolla sp.</u>	06
3. Descripción general del helecho <u>Azolla</u>	07
4. Características específicas de la especie de <u>Azolla microphylla</u> a investigar.	11
5. <u>Azolla</u> , distribución y ambiente	11
6. Habitat de la especie de <u>Azolla microphylla</u> encontrada en Santiago Atitlán	13
7. Descripción botánica y taxonómica de las algas verdes-azules	13
8. Distribución, ambientes y uso de las algas verdes-azules	15
9. La función biológica del Nitrógeno en la asociación <u>Azolla-Anabaena</u> y algunos beneficios a la agricultura	16
10. Cultivo y manejo del Helecho <u>Azolla sp.</u>	18
VI METODOLOGIA	19
1. Localización	19
1.1 Climatología	19
1.2 Zona de vida	19
2. Material empleado	
2.1 Material genético	19
2.2 Recipientes	19
2.3 Factores y niveles estudiados	20
2.4 Análisis de los sustratos	20
3. Tratamientos y Diseño experimental	20
3.1 Tratamiento	20
3.2 Unidad experimental	20
3.3 Método de análisis	21
3.4 Datos a tomar	21

	4. Manejo del experimento	21
VII	RESULTADOS Y DISCUSION	25
	1. Discusión general de respuestas	25
	2. Respuesta de los tratamientos aplicados sobre las variables tabuladas	26
	3. Efecto del sustrato sobre el rendimiento	28
	4. Efecto del pH en las variables estudiadas	28
	5. Efecto del incremento de biomasa y el aporte de nitrógeno fijado en la simbiosis	32
	6. Observación visual sobre la coloración del helecho <u>Azolla microphylla</u>	33
VIII	CONCLUSIONES	35
IX	RECOMENDACIONES	36
X	BIBLIOGRAFIA	37
XI	APENDICE	42
	A. Determinación de nitrógeno total en material vegetal por el método Kjeldahl	43
	B. Solución para el agua tratada	46
	C. Análisis de los sustratos	47
	D. Resultados de laboratorio entomología	48
	E. Informe de análisis de normalidad del ácido clorhídrico	50
	F. Análisis de varianza de las variables respuestas	51

LISTADO DE CUADROS

	Página
1. Tratamientos resultantes de la combinación del sustrato y el valor de pH para evaluar la productividad del helecho <u>Azolla</u>	20
2. Significancia de los análisis de varianza para la biomasa (kg/m^2), % de Nitrógeno y área Foliar (cm^2)	25
3. Comparación de medias de los tratamientos y su significancia	26
4. Comparación de medias de los sustratos y su significancia	26
5. Comparación de medias del pH de los sustratos y su significancia	26
6. Productividad de biomasa (kg/m^2) y nitrógeno (kg/ha) de la simbiosis <u>Azolla microphylla</u> - <u>Anabaena sp.</u> bajo 8 tratamientos de sustrato y pH del mismo	32
7. Color que presentaron las plantas de <u>Azolla microphylla</u> , a los 20 días de sembrado el ensayo.	

LISTADO DE FIGURAS

1. Vista de la planta por encima, parte apical de una ramificación, cortes transversales y longitudinales de Helecho <u>Azolla sp.</u>	09
2. <u>Azolla microphylla</u> Galápagos Islas	10
3. Simbionte de <u>Azolla filiculoides</u> Lam. <u>Anabaena cylindrica</u> de vida libre.	10
4. Arreglo y aleatorización de los tratamientos.	22

LISTADO DE GRÁFICAS

1. Efecto de la interacción sustrato-pH sobre el rendimiento de biomasa (gr/m^2), nitrógeno fijado (%) y área foliar (cm^2) de Helecho <u>Azolla microphylla</u> .	29
2. Efecto del sustrato sobre la productividad de biomasa (gr/m^2), % de nitrógeno fijado y área foliar (cm^2) del Helecho <u>Azolla microphylla</u> .	30
3. Efecto del pH del sustrato sobre la producción de biomasa (gr/m^2), % de nitrógeno fijado y área foliar (cm^2) en el helecho <u>Azolla microphylla</u> .	31

LISTADO DE FOTOGRAFÍAS

1. Vista directa al arreglo y aleatorización de los tratamientos y sus repeticiones.	24
2. Observación directa del montaje del experimento en el campo	24

EVALUACION DE LA PRODUCTIVIDAD DEL HELECHO DE LA ESPECIE Azolla microphylla, EXISTENTE EN SANTIAGO ATITLAN Y SU CAPACIDAD DE FIJACION SIMBIOTICA DE NITROGENO CON EL ALGA Anabaena sp.

EVALUATION OF FERN Azolla microphylla PRODUCTION LIVE AT SANTIAGO ATITLAN AND ITS SYMBIOTIC FIX CAPACITY OF NITROGEN IN THE Anabaena sp. ALGA

RESUMEN

El presente estudio del helecho Azolla microphylla procedente de las orillas del lago de Atitlán, fue realizado en la cabecera departamental del departamento de Chimaltenango a una altura promedio de 1,800 m.s.n.m., con una altura promedio de 16.4°C, entre los meses de agosto y septiembre de 1989.

Los objetivos definidos fueron: Evaluar la productividad y la cantidad de nitrógeno fijado en la simbiosis del helecho Azolla microphylla con el alga Anabaena sp., independientemente del sustrato en que crece.

Para tal fin se establecieron 8 tratamientos con 4 repeticiones, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4x2, los niveles del factor sustrato fueron: agua del Lago de Atitlán, agua tratada con nutrientes, agua de cañería de la cabecera de Chimaltenango y agua servida de efluentes que pasan por la parte norte de los Aposentos, Chimaltenango y 2 niveles de pH: pH 5.0 y el natural de cada agua colectada.

Las variables respuestas fueron, peso seco, % de nitrógeno y Area foliar de las plantas cosechadas.

Los tratamientos que tuvieron mejores resultados en cuanto a variables respuestas fueron: El agua tratada con nutrientes y el agua servida con pH modificado a 5.0, ya que con dicho tratamiento se obtuvo la mejor producción de biomasa, mayor cantidad de nitrógeno por planta y mejor desarrollo del área foliar.

Observándose también que los tratamientos con pH mayores de 5.0 fueron los rendimientos más bajos. Estas aguas fueron las de cañería y la del Lago de Atitlán. De lo que se concluye que el pH más bajo y aguas más ricas en nutrientes producen los mejores rendimientos de biomasa del helecho.

I. INTRODUCCION

En los últimos decenios se han registrado aumentos espectaculares de la producción agrícola, pero, dado que la población mundial ha crecido en los últimos decenios se requerirán aumentos aún mayores de producción. Más de la mitad del incremento de la producción mundial alcanzada puede atribuirse al creciente empleo de fertilizantes inorgánicos. De los elementos nutrientes proporcionados por los fertilizantes inorgánicos, el más importante es el nitrógeno. Porque en algunos casos, este elemento contribuye con el 25% de los aumentos de rendimiento logrados. Ahora bien, estos fertilizantes son costosos y pueden convertirse en contaminantes ambientales.

Antes de que aparecieran los fertilizantes químicos manufacturados, la producción agrícola dependía de la fijación biológica del nitrógeno (8). Desde la aparición del proceso industrial de fertilizantes químicos, se recurre en creciente proporción a los fertilizantes manufacturados, según ciertas estimaciones ya se utiliza casi tanto nitrógeno fijado industrialmente como nitrógeno de fijación biológica. Aunque ninguna planta es capaz de fijar biológicamente el nitrógeno molecular por sí misma, la naturaleza ha dotado a varios microorganismos primitivos de la capacidad de fijar biológicamente el nitrógeno molecular y existen algunas plantas que se asocian simbióticamente con algunos de estos microorganismos los cuales son capaces de utilizar directamente el nitrógeno atmosférico que ya ha sido transformado a compuestos nitrogenados asimilables que ayudan a su crecimiento.

En el presente trabajo se evaluó la productividad del helecho Azolla microphylla, así como el nivel de fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico, con el alga verde-azul (Cianobacteria) Anabaena sp., la presencia de estos simbioses en Guatemala la reporta Cardona S. y Aguilera R. (8).

Esta evaluación se hizo haciendo crecer el helecho en 8 sustratos diferentes, dentro de los cuales uno de ellos trató de simular la respuesta en un medio similar al del ambiente natural donde fue encontrada durante la investigación que previamente fue realizada por los investigadores mencionados.

II. JUSTIFICACION

Según estudios realizados de la distribución del helecho Azolla sp., en Guatemala por Cardona S. y Aguilera R. (8), concluyen que es necesario evaluar la productividad del helecho Azolla sp. y de la capacidad de su asocio con el Alga Anabaena sp., para fijar simbióticamente, nitrógeno atmosférico, lo anterior tiene como objetivo buscar una alternativa económica que puede servir como fuente de abono orgánico en sustitución de fertilizantes minerales en diferentes tipos de cultivos principalmente en arroz bajo inundación y/o pequeñas áreas hortícolas que bajo manejo podrían producirla e incorporarla a sus campos de siembra.

En países Asiáticos el helecho Azolla sp. ha sustituido a los fertilizantes nitrógenados químicos, en el cultivo de arroz y con un criterio diferente de utilización se ha experimentado su uso como alimento de animales, tal como se cita en la parte de revisión bibliográfica de este trabajo.

III. HIPOTESIS

- 1.- Azolla microphylla, produce diferente cantidad de biomasa, dependiendo del sustrato en que crece.

- 2.- La cantidad de nitrógeno fijado como producto del asocio Azolla microphylla - Anabaena sp., varia en relación al sustrato en que crece.

IV. OBJETIVOS

Generales:

1. Evaluar la productividad del helecho de la especie Azolla microphylla, encontrada en el Lago de Atitlán.
2. Evaluar la cantidad de nitrógeno fijado en la asociación Azolla ---- microphylla con Anabaena sp.

Específicos:

1. Evaluar 4 sustratos diferentes con 2 condiciones diferentes de pH, para determinar la capacidad productiva del helecho Azolla microphylla.
2. Evaluar qué efecto tiene cada sustrato en el aprovechamiento del nitrógeno fijado por el alga Anabaena sp.

V. REVISION BIBLIOGRAFICA

1. ALTERNATIVA PROMETEDORA PARA LA FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO.

En muchas partes del mundo no se usan fertilizantes nitrogenados porque no están disponibles o su costo es demasiado. La alternativa ha sido aumentar el nitrógeno del suelo a través de la recolección, descomposición y distribución de desechos orgánicos (residuos vegetales y estiércol) que se incorporan al suelo antes de la siembra; la producción de cultivos de abono verde que tienen capacidad para fijar el nitrógeno (leguminosas) que se incorporan al suelo antes de sembrar el cultivo principal; y otras técnicas de rotación de cultivos a largo plazo. Estos métodos son demorados, no permiten el aprovechamiento máximo de la tierra, y dadas las necesidades nutritivas de las variedades modernas de alto rendimiento, no suministran todo el nitrógeno que necesitan para su máximo rendimiento potencial (11).

Desde hace mucho se sabe que algunos microorganismos libres y otros que tienen relaciones simbióticas de dependencia mutua para sobrevivir, tienen capacidad para convertir el nitrógeno del aire en amonio que puede ser utilizado por otras plantas. Esta actividad microbiana, denominada fijación biológica del nitrógeno, es un componente principal del ciclo del nitrógeno en la naturaleza. Ese ciclo es la manera en la que ese elemento regresa al suelo en forma combinada que puede ser aprovechada por las plantas, para reponer el que se perdió a la atmósfera por desnitrificación y otras causas. En la agricultura moderna, la contribución de la fijación biológica del nitrógeno generalmente es eclipsada y no se considera tan importante como el uso de fertilizantes nitrogenados comerciales, sin embargo la fijación biológica del nitrógeno es vital en muchas partes donde no es posible obtener fertilizantes químicos (11).

La actividad de la fijación biológica del nitrógeno, es especialmente importante en suelos sumergidos en lo que es común sembrar; arroz y otros cultivos. La investigación ha mostrado repetidamente que en campos que no reciben fertilizante comercial, las bacterias fijadoras de nitrógeno y las algas verdes azules pueden recuperar y poner a disposición de la planta hasta 40 ó 50 Kg de nitrógeno por hectárea.

Esto explica por qué el arroz y otros cultivos se siembran año tras año sin usar fertilizantes nitrogenados y producen rendimientos relativamente bajos pero constantes (11).

La alfombra de agua Azolla es la fuente más prometedora para extraer nitrógeno del aire que puede aprovechar las plantas. Azolla es un género de pequeños helechos acuáticos que viven en simbiosis con una alga verde azul fijadora de nitrógeno (Anabaena azollae). En esa relación simbiótica la pequeña planta acuática flotante, muy prolífica y de rápido crecimiento, suministra protección y elementos nutritivos para el alga verde azul, ésta a su vez, produce nitrógeno a lo largo del ciclo de vida del helecho para suplir sus necesidades de crecimiento y desarrollo. El alga verde azul Anabaena vive en la cavidad de la hoja del helecho. En términos simples, se ayudan mutuamente (11).

2. DESCUBRIMIENTO Y USO HISTORICO DE HELECHO Azolla sp.

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 de Richard en París y a consecuencia probablemente colectado por Michaux en los estados del sureste de Los Estados Unidos (3).

Así todavía, la diferenciación de especies fue basada solamente sobre aspectos vegetativos, A. caroliniana y fue descrita por Robert Brown poniendo el género sobre bases científicas. No fue sino hasta 1847 que Mettenius caracterizó 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 (8).

Desde hace cientos de años en China y Viet Nam del Norte, descubrieron que la Azolla, un género de helecho acuático, es un efectivo abono verde y fertilizante nitrogenado.

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 1959 y se ha intensificado desde principios del año 1960 (8).

En Viet Nam del Norte, la investigación se hizo sistemáticamente después de 1954 (43). En la India el uso de Azolla es relativamente nuevo, ya que su uso como biofertilizante es de un poco más de 10 años (33).

Al momento se hacen esfuerzos exhaustivos en todos los niveles, desde las Academias Nacionales de Investigación y mantienen a China al frente de los nuevos descubrimientos (8).

El Azolla, es uno de los abonos más importantes para el arroz en las provincias del sur-este de China, donde de un cuarto de millón de hectáreas son cultivadas anualmente según Lumpkin (26).

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 (7).

En China, el Azolla se ha cultivado en tanques e invernaderos durante los meses de invierno, para luego ser usado en los campos de arroz en la primavera.

En muchos países, incluyendo América, Azolla es considerada una maleza (18).

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 (43) muestran que el uso de la asociación Azolla-Anabaena es una fuente nitrogenada de mucho valor orgánico para el arroz (46).

3. DESCRIPCION GENERAL DEL HELECHO AZOLLA

Azolla pertenece a la familia Salvinácea. Son plantas pequeñas, acuáticas que forman una densa cubierta en la superficie del agua de varios centímetros de grosor, como evitando mosquitos en la superficie del agua y por esta razón a la planta se le conoce algunas veces como "Mosquito Helecho". Estas pequeñas plantas flotan libremente enviando sus raíces o raicillas hacia abajo del agua, las raicillas que cuelgan dentro del agua miden en largo 0.5 centímetros, de igual manera que la hierba de pato, las raíces o raicillas son simples, filiformes y con abundantes pelos absorbentes. Sus tallos son parecidos a pelos ramificados; las hojas son diminutas, alternas, bilobuladas, suculentas, son compactas, dispuestas y en paredes sostenidas en dos hilares. Cada hoja está compuesta de dos lóbulos circulares, estos lóbulos son opuestos, 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 apresados 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 como la edad llegan a ser algo erectos (5, 16, 29, 31, 41, 42, 44, 50). Las hojas más altas son verdes y las de abajo de menor color, 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, las hojas tienen un tamaño de 2-3 mm., de largo. En las actividades de los lóbulos superiores de las hojas suculentas, especialmente en la base de las hojas y el punto de crecimiento del tallo vive o se aloja una 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, 5, 6, 14, 19, 22, 24, 29, 31, 41, 42, 44, 49, 50).

Azolla sp., forma densas matas sobre el agua. La reproducción es predominantemente vegetativa, la cual tiene lugar por fragmentación de la planta que es la forma principal de reproducción, ya que el uso de esporas no es posible aún. 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 (15, 18, 26, 40, 41).

Las heterosporas y esporangios masculinos y femeninos, son producidos en estructuras circulares y separadas (sporocarpos); comunmente localizados en parejas en las axilas de las hojas viejas, protegidas por una membrana denominada Indisium; el megasporangio es elipsoide con apariencia de botella, consistente en 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 verdoso o verduzco; el diámetro, sostenido por numerosos pedicelos largos de la microsporangia, cada una de las cuales contiene 4-6 masas de esporas (másculas) ligadas juntamente por una delgada capa de materia protoplasmática endurecida. Las másculas son espinosas con glochidias, cada máscula está constituida de 32 a 64 microsporas, 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 (8).

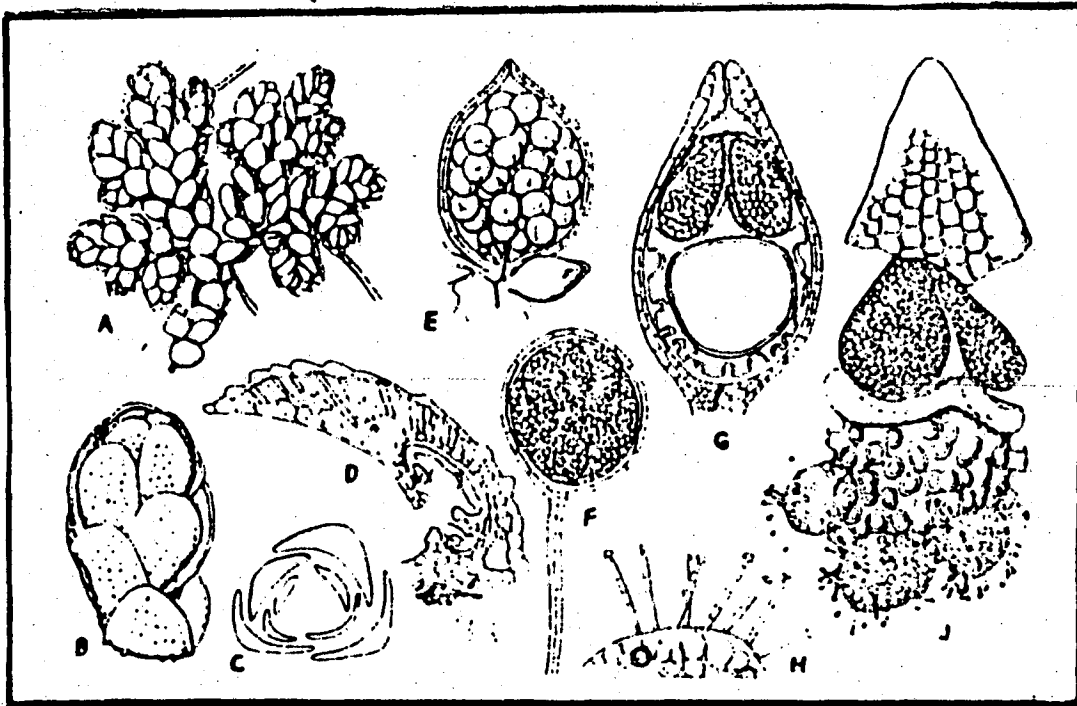


Fig. No. 1 Azolla (A, H Azolla caroliniana, todo lo demás A. filiculoides) A. Vista de la planta por encima (4X). B. Parte apical o punta de una ramificación vista por encima (12X). C. Igual a B solo que en corte transversal (12X). D. Corte longitudinal de un lóbulo superior de una hoja en la cavidad Anabaena azollae (70X). E. Soro masculino arriba y femenino abajo (20X). F. Microsporangio (65X). G. Megasporangio rodeado por Indisium que contiene una megaspore con cuerpo flotador (65X). H. Parte de una másula con glochidios (16X). I. Megaspore sacada de la mitad superior del indisium para hacer visibles el cuerpo flotador en el episporio están fijadas 3 másulas.

Tomado de Strasburger (42).

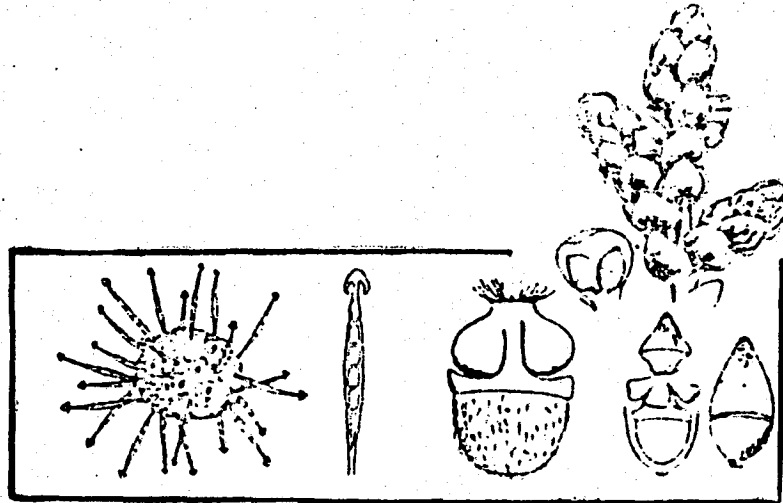


Fig. No. 2 Azolla microphylla Galápagos Islas.
Tomado de Svenson (44).

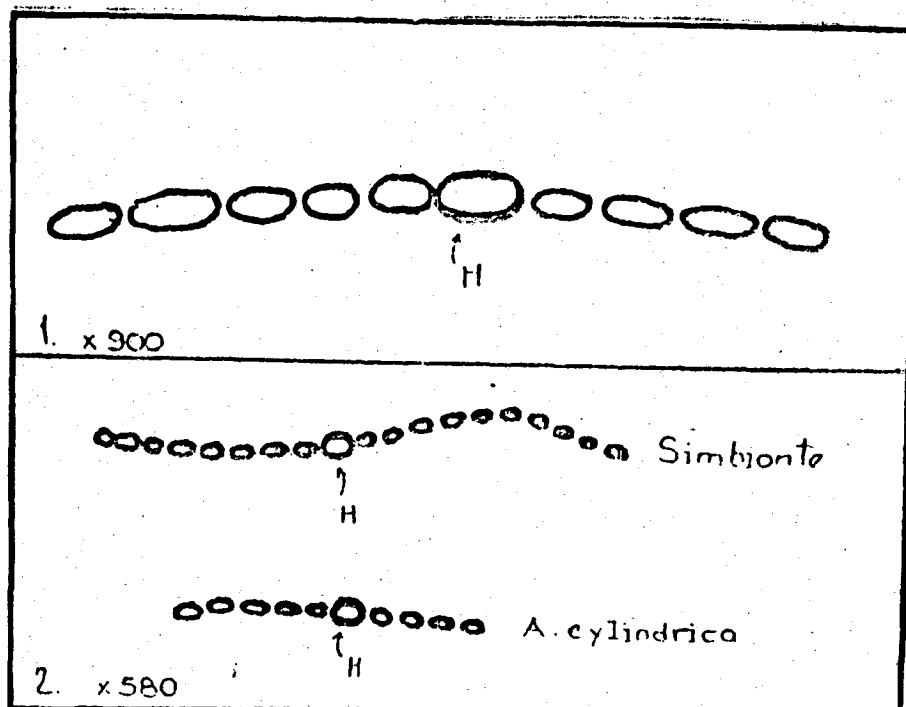


Fig. No. 3 Simbiote de Azolla filiculoides Lam
Anabaena cylindrica de vida libre, se puede no
tar que el Simbiote es más grande que A.
cylindrica de vida libre.

Tomado de Becking and Donze (4).

4. CARACTERISTICAS ESPECIFICAS DE LA ESPECIE DE Azolla microphylla A INVESTIGAR.

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 imbricada, frondoso, elíptica, oblonga o espatulada, obtusa o rara vez subaguda, con algunas grandes 0.4, 0.7, (0.9) mm. de largo. La superficie de la megaspora es uniforme; microsporangia conteniendo 3-4 (5) máculas; 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 (8).

En Guatemala, Honduras, Salvador, Nicaragua, República Dominicana, Guyanas, Brasil, Bolivia e Islas Galápagos, se observaron fértiles colecciones (8).

5. 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 Viet Nam, China, Thailandia y otros países asiáticos, lo cual es probablemente la primera etapa para domesticar y explotar el helecho Azolla para los sistemas de agricultura (4).

Ocho especies han sido reportadas por Li, Zu y Mao (24) de las cuales seis también menciona Ferrera (15) y cinco Lumpkin (27), 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 de Investigación de Arroz (43). Franda (16) ha obtenido e identificado 4 del total de 9 especies reportadas e identificadas.

Según Rains y Talley (32) 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 tempe

raturas.

Las especies que componen el género *Azolla* y que han sido distribuidas geográficamente por Ferrera (12) son:

Azolla pinnata, importante en Asia.

Azolla nilótica, norte de Africa.

Azolla filiculoides, Norte de 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 LI, Z.; ZU, S.; MAO, M. (24). Las especies crecen en agua dulce detenidas o de movimientos lentos, también pueden encontrarse en diques, estanques, pantanos, lagunas pequeñas que contienen aguas estancadas y en campos inundados de arroz en Asia (1, 6, 24, 28, 36, 40). Seis de las especies mencionadas, sin que el autor señale a cuáles en especial se refiere, han sido encontradas en corrientes tranquilas, estanques de agua y pantanos en climas cálidos, templados y regiones tropicales (29).

Las plantas de *Azolla* se encuentran creciendo en pleno sol en compañía de la llamada Duckweed o sea la *Lenma*, las que junto a otras plantas acuáticas cubren la totalidad de las superficie acuática, las plantas de *Azolla* en la estación seca, por estar expuestas a la luz solar tienen una coloración rojiza (7).

Durante un estudio conducido en Sulawesi del Sur en Indonecia se notó que el crecimiento del *Azolla* en áreas sombreadas fue mejor, más la coloración verde y más densa que en campos abiertos, es evidente que la sombra mejoró la apariencia del *Azolla*, pero redujo notablemente la biomasa (7). Las plantas jóvenes o muy sombreadas son generalmente verdes, tanto que las más viejas o bajo la luz directa del sol son rojizas (40). Estas aseveraciones las comprueba aún más el experimento llevado a cabo en Cicurug, Java Occidental en donde el tratamiento a la 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 obs

curo (7).

6. HABITAT DE LA ESPECIE DE Azolla microphylla ENCONTRADA EN SANTIAGO ATITLAN

Cardona S. y Aguilera R. (8), reportan que el lugar donde fue encontrada la especie Azolla microphylla es el siguiente: Santiago Atitlán, embarcadero municipal a orillas del lago de Atitlán, en el departamento de Sololá. El helecho se encontró 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.

7. DESCRIPCION BOTANICA Y TAXONOMICA DE LAS ALGAS VERDES Y AZULES

En la naturaleza la mayor parte de los organismos utilizan el nitrógeno combinado con elementos como el H y el O₂ y sólo es utilizado en forma libre (N₂) por un pequeño grupo de organismos del reino procariote división 1 ó sea las Cianobacterias (alga verde-azul) dentro del cual se incluye Anabaena sp. según menciona Aguilera (2).

Las algas verdes-azules (Cianobacterias) se agrupan entre los organismos procariotes, es decir que carecen de núcleo definido, mitocrondrias y el retículo endoplasmático. 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 muciláginosa, y son plantas fotosintéticas que contienen clorofila. Además del helecho Azolla, el alga verde-azul Anabaena que vive dentro del helecho, específicamente en las vacidades de las hojas, también juega un papel importante, debido a que la fijación de N₂ es fotosensitiva.

La utilización del alga Anabaena, como un biofertilizante en la producción de arroz, representa un sistema de autosoporte, desde el cual, ellos pueden proveer fotosintéticamente la energía requerida para la fijación de N₂. Lo anteriormente escrito lo confirma Roger y Kulasooriya, cuando citan que en los campos de arroz uno de los más importantes recursos biológicos de nitrógeno combinado lo constituyen las algas verde-azul, a las que pertenece el género Anabaena. Además, poseen caroteno y dos pigmen-

tos solubles en agua (ficobiliproteínas), ficocianina "C" y ficoeritrina "C". Acumulan reserva almidón de cianofitas y algunas proteínas características. A veces son células no flageladas y no se ha detectado ninguna producción sexual (17, 36, 46, 49, 50).

La producción vegetativa de las formas filamentosas, se produce por una fragmentación simple de filamento. La separación de esas células muertas produce filamentos cortos que tienen un movimiento de deslización, 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 sitúan en el inferior parece que se asocian a la fragmentación de los filamentos y a la fijación del nitrógeno. Las algas verde-azul a las que pertenecen Anabaena, cuentan con esas células especiales con paredes gruesas que se llaman Heterocistos, que contienen la Nitrogenasa. Hasta donde se sabe la reproducción de las cianofitas procarióticas es vegetativa (6, 49).

Las algas verde-azules carecen de raíces, tallos y hojas por lo que su cuerpo vegetal se conoce como Talo (7, 49).

La división de las algas se basa en la diferencia de 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 separada de las cianofitas (cianoficias) que se presenta como un grupo intermedio entre las bacterias procarióticas y las algas eucarióticas (49).

Las células de las cianofitas ó cianoficias están relacionadas con formas procarióticas debido a la semejanza que guardan en su mecanismo genético con el de las bacterias; contienen clorofila "A" que se localiza concentrada en la periferia de las células, lo cual se determina con estudios de fluorescencia; dicha clorofila "A" está asociada a membranas, que fotosintetizan un carbohidrato a partir de dióxido de carbono, agua y liberan oxígeno, (49).

Las células de las algas verde-azul 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).

8. DISTRIBUCION, AMBIENTE Y USO DE LAS ALGAS VERDE-AZULES

Las algas son un grupo de plantas autotróficas muy diversas que crecen principalmente en aguas dulces, marinas, lugares semiacuáticos, estanques, pantanos, proliferan a la mayoría de los estanques semipermanente en lagos y arroyos, a lo largo de las costas marinas y en las aguas superficiales de los océanos. Las algas verde-azules necesitan oxígeno para la respiración y liberación de oxígeno en la fotosíntesis, lo que las diferencia de las bacterias fotosintéticas anaerobias y las semeja a las plantas superiores, (26, 49).

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 ó luz solar para realizar proceso de fotosíntesis, (49).

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., (49).

En sistemas de agua dulce, la mayoría de los recubrimientos superficiales se debe a algas verde-azules, (17).

La tecnología para la multiplicación en masa del alga en campos, ha sido desarrollo de óptima producción a menudo dependiendo de una adecuada fertilización con fósforo (33).

El inóculo de alga puede ser preparado en el agua poco profunda en 2 semanas según Misra (30).

La inoculación del alga verde-azul, fijadora del nitrógeno hace un buen uso de su actividad de fijación atmosférica, dicha actividad envuelve una técnica delicada según Yamaguchi, (50).

La inoculación de alga puede dar a los agricultores el beneficio de aplicación de 25-30 Kg/N/ha. como cita Venkataraman (46).

Otros investigadores tales como Kannaiyan, Govindarajan y Lewin (24), concluyen que la adición de algas verdes-azules dio en varias pruebas un efecto positivo sobre la producción.

Aunque existen datos como los anteriores, Florida (17) en un artículo cita que los estudios de inoculación de algas son muy experimentales y están lejos de la etapa de uso general en la granja. En algunas regiones, ciertas prácticas culturales sirven para estimular un mayor desarrollo de las algas verdes-azules, pero no se han identificado como un medio prác-

tico (8).

El potencial de las algas verdes-azules libres como fuente adicional de nitrógeno en forma limitada ya ha quedado establecido. Sin embargo, ese potencial parece menor que el de las leguminosas en rotación con otros cultivos y el de la simbiosis de Azolla algas verdes azules. El aprovechamiento de las algas libres requiere mucha investigación adicional (8).

9. LA FUNCION BIOLOGICA DEL NITROGENO EN LA ASOCIACION DE 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 Estados Unidos de Norteamérica se pierden anualmente 25×10^6 toneladas de nitrógeno.

Se estima que para restaurar la fertilidad del suelo se regresan 3×10^6 toneladas 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 produce en la atmósfera con las tormentas eléctricas pero la cantidad más importante (10×10^6 toneladas de nitrógeno) se recupera mediante la fijación del nitrógeno efectuado por los organismos biológicos (10).

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

El heterocisto del alga Anabaena-azollae Strsb, se encuentra alojada en las cavidades, vesículas o estomas de la hoja del lóbulo dorsal del helecho acuático Azolla. Este simbiote descrito por Strasbueger en 1973, es capaz de fijar nitrógeno atmosférico y suplir al huesped con este elemento (2, 5, 6, 12, 19, 35).

Peters en 1974, descubrió que era el alga y no el helecho, el que actualmente fija nitrógeno (18).

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, 14, 15, 22, 37, 43).

El exceso de fijado se puede excretar en la tierra o en el medio en el que microorganismos se desarrolla.

Las algas verde-azules también excretan NH_3 , se puede someter al proceso de Nitrificación, convirtiéndose rápidamente en ion nitrado, 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 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. La proporción de fijación de nitrógeno atmosférico por la simbiosis Azolla-Anabaena compete con la simbiosis efectuada por Rhizobium y las leguminosas ya que dan como resultado apreciables cantidades de N_2 fijadas (16, 36, 43, 46).

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 transformar fertilizantes (18).

Beneficios que ha proporcionado la utilización de Azolla en la agricultura:

En la India la asociación Azolla-Anabaena contribuye efectivamente con nitrógeno para la cosecha de arroz (38). Singh (36) menciona que la incorporación de Azolla al suelo, fue comparada con la aplicación de fertilizantes nitrogenados, siendo satisfactoria su ampliación. En otro artículo el mismo autor (37) menciona que en la India, se utilizó zolla 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 deficiencias de Zinc (39).

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 (32).

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 (23).

En Sri Lanka, experimentos realizados mencionan a Azolla como una buena fuente potencial de proteínas para alimentación de ganado (1).

Lumpkin (26), señala que Azolla puede ser usada como alimento de cerdos, patos y peces.

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 (22).

En Thailandia, fue evaluado el uso de Azolla, como sustitutos de fertilizantes nitrogenados en campos de arroz, pudiéndose notar que su uso fue comparable al que existe cuando se aplica fertilizantes nitrogenados convencionales, (50).

10. CULTIVO Y MANEJO DE HELECHO Azolla sp.

Hay factores que limitan el uso de Azolla como fuente de nitrógeno. Sólo crece en el agua y no sobrevive en condiciones secas. El primer requisito es un suministro constante de agua durante toda la estación y un control adecuado del agua sin cambios bruscos de flujo o de nivel. Su multiplicación en el campo es por separación vegetativa, no por semilla por eso hay que mantener en el vivero durante todo el año un suministro constante y abundante de plantas en desarrollo que puedan aplicarse al campo inundado una vez terminado el transplante o cuando se inunda el arroz sembrado. Aunque es más importante en los trópicos por su crecimiento rápido, las temperaturas muy elevadas estimulan el ataque de hongos, e insectos que reduce el desarrollo y productividad de la Azolla (11).

Por otro lado, la Azolla necesita un suministro adecuado de fósforo para desarrollarse y producir al máximo. La mayoría de los suelos arroceros no tienen disponibilidad adecuada de fósforo y a menudo requieren aplicaciones adicionales. Los requisitos de mano de obra y transporte para llevar el inóculo inicial de Azolla (voluminoso, muy perecedero y semilíquido) del vivero al campo son substanciales.

En áreas donde el costo de mano de obra es alto o donde los medios de transporte son inadecuados esos factores impiden el aprovechamiento máximo de la Azolla. A menudo estos helechos flotantes sufren el ataque de insectos y enfermedades; en algunos casos el costo de los plaguicidas para combatirlos anula la ventaja de la mayor producción de nitrógeno (11).

VI. METODOLOGIA

1. LOCALIZACION

El trabajo se realizó en 7a. Av. final, Barrio las Majadas, Chimaltenango, localizado a 54 Kms. de la ciudad capital de Guatemala, a una Latitud Norte de 14°35' y una Longitud Oeste de 90°3', la altura sobre el nivel del mar es de 1,800 metros.

1.1 Climatología

La precipitación media anual es de 929.6 mm. y la temperatura media anual es de 16.4°C y la radiación solar oscila entre 0.26 a 1.27 Cal/cm²/m.

1.2 Zona de Vida

Según Holdridge (2), es Bosque húmedo montano bajo Sub-tropical.

2. MATERIAL EMPLEADO

2.1 Material Genético

Se usó el helecho Azolla microphylla, encontrada a orillas del Lago de Atitlán en el municipio de Santiago Aitlán, departamento de Sololá.

2.2 Recipiente

El experimento se realizó en recipientes de plástico obscuro de 32 cm. de diámetro, con una cantidad de Sustrato de 6 Lt.

2.3 Factores y Niveles Estudiados

2.3.1 Factor sustratos y sus niveles

2.3.1.1 Agua de cañería: agua potable del municipio de Chimaltenango

2.3.1.2 Agua servida: la fuente considerada está localizada a inmediaciones del balneario los Aposentos de la cabecera departamental de Chimaltenango.

2.3.1.3 Agua tratada: ésta fue preparada usando la solución Jensen de micro y macro nutrientes, como lo describe Vincent (47) (ver apéndice B).

2.3.1.4 Agua Lago Atitlán: el agua se colectó a orillas del Lago en el municipio de Santiago Aitlán

2.3.2 Factor pH del sustrato y sus niveles

2.3.2.1 pH ajustado a 5.0 con ácido sulfúrico.

2.3.2.2 pH natural de cada sustrato.

2.4 Análisis de los Sustratos

Se llevó muestra a la Dirección Técnica de Riego y Avenamiento (DIRYA), con el objetivo de conocer, el contenido de miliequivalentes por litro de Cationes y Aniones y su pH; para poder efectuar los tratamientos modificados.

3. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1 Tratamiento

Se utilizaron 4 sustratos donde creció Azolla microphylla y 2 niveles de pH; el que presenta el sustrato normalmente y pH5, lo que hace un total de 8 tratamientos, organizados en un diseño de completamente al azar con 4 repeticiones y en un arreglo factorial 4 x 2, ver cuadro No. 1.

Cuadro No. 1

TRATAMIENTOS RESULTANTES DE LA COMBINACION DEL SUSTRATO Y EL VALOR DE pH PARA EVALUAR LA PRODUCTIVIDAD DE Azolla

Nivel de pH	Sustrato	Asignación
Sin Modificar 7.90	Agua Potable	APSM
Modificado 5.0	Agua Potable	APM5
Sin Modificar 7.39	Agua Servida	ASSM
Modificado 5.0	Agua Servida	ASM5
Sin Modificar 7.00	Agua Tratada	ATSM
Modificado 5.0	Agua Tratada	ATM5
Sin Modificar 8.16	Agua del Lago de Atitlán	ALSM
Modificado 5.0	Agua del Lago de Atitlán	ALM5

3.2 Unidad Experimental

La unidad experimental que se usó estuvo constituida por cada baño de plástico de 32 cm. de diámetro y una cantidad de sustrato de 6 Lt.

3.3 Método de Análisis

Cada Variable se analizó usando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + \alpha\gamma_{ij} + E_{ijk}$$

Y_{ijk} = Variable Respuesta

μ = Efecto de la Media General

α_i = Efecto de la i.....esima mod. Factor A

γ_j = Efecto de la j.....esima mod. Factor B

$\alpha\gamma_{ij}$ = Efecto de la Interracción en los Factores A y B

E_{ijk} = Error Experimental

Que nos permitió corroborar ó negar las Hipótesis que fueron planteadas bajo el siguiente esquema;

H_0 $\alpha_i = 0$ para todo i

$\gamma_j = 0$ para todo j

No existe interacción entre los factores A y B

H_a $\alpha_i \neq 0$ para el menos un i

$\gamma_j \neq 0$ para al menos un j

Existe interacción entre factores A y B

3.4 Datos a Tomar

Los datos que se tomaron fueron: La biomasa (gr) en base fresca y se ca del helecho a los 20 días después de la siembra de cada unidad expe rimental, la siembra se hizo con 10 gr. del helecho recolectado del Lago, también se evaluó el área foliar expresado en cm^2 , considerando ca da medición, el promedio del tamaño de 10 plantitas tomadas al azar en cada unidad experimental.

Las plantas cosechadas después de secadas y pesadas, se les molió y estimó el porcentaje de Nitrógeno presente usando para su medición el método de micro Kjeldahl (13), ver apéndice A, y los valores de peso se co de cada unidad experimental para su presentación fueron transforma- dos a valores en Kilogramos por unidad de Area ($metros^2$).

4. MANEJO DE EXPERIMENTO

Para iniciar el experimento lo primero que se hizo fue trasladar la es pecie de helechos Azolla microphylla del Lago de Atitlán al área

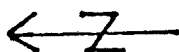
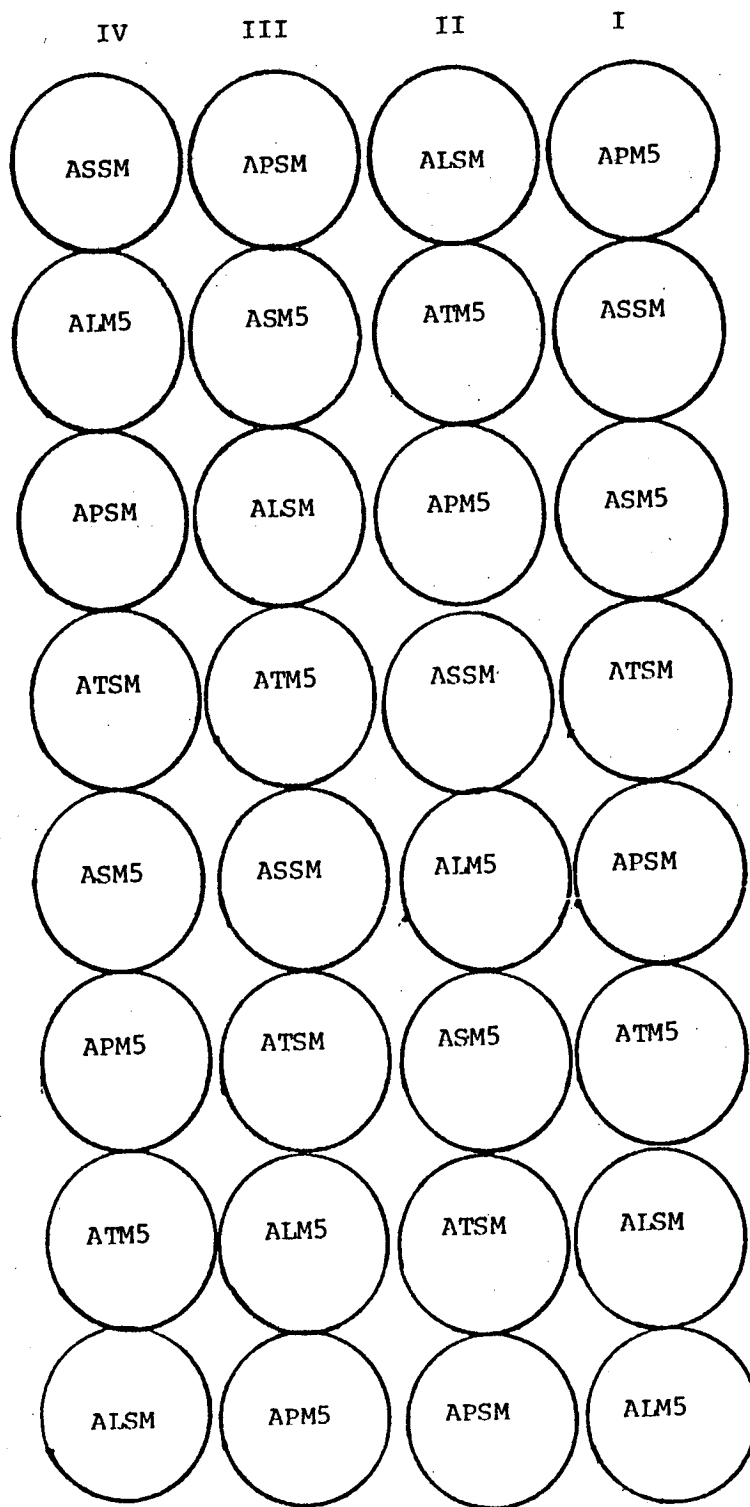


FIGURA No. 4

ARREGLO Y ALEATORIZACION DE LOS TRATAMIENTOS

experimental en donde se conservó en baños grandes algunos días mientras se procedía a preparar los sustratos.

Una vez preparados los sustratos se colocaron 6 Lt. en cada baño plástico y se sembraron 10 gr. de helecho en cada unidad experimental. Durante el periodo de observación se controló manualmente la presencia de plagas (aparecieron larvas de la familia gesiidae Aegeriidae), la incidencia de la lluvia directa y el efecto de heladas, colocando para estos 2 últimos aspectos una cubierta de láminas en los periodos de lluvia y durante las noches, se mantuvo el nivel original de sustrato en cada baño, adicionando a los 6 y 12 días las pérdidas ocasionadas por evapotranspiración.

A los 20 días, cuando la cubierta del área de los baños con mayor respuesta a tratamientos fue del 100% se pesó la biomasa de todos los tratamientos del experimento; se separaron 10 gr. de helecho en cada baño y se pesó la biomasa restante la cual se llevó después a un horno a 60°C; durante 48 horas para obtener los valores de materia seca. La materia seca se molió y analizó el contenido de nitrógeno.

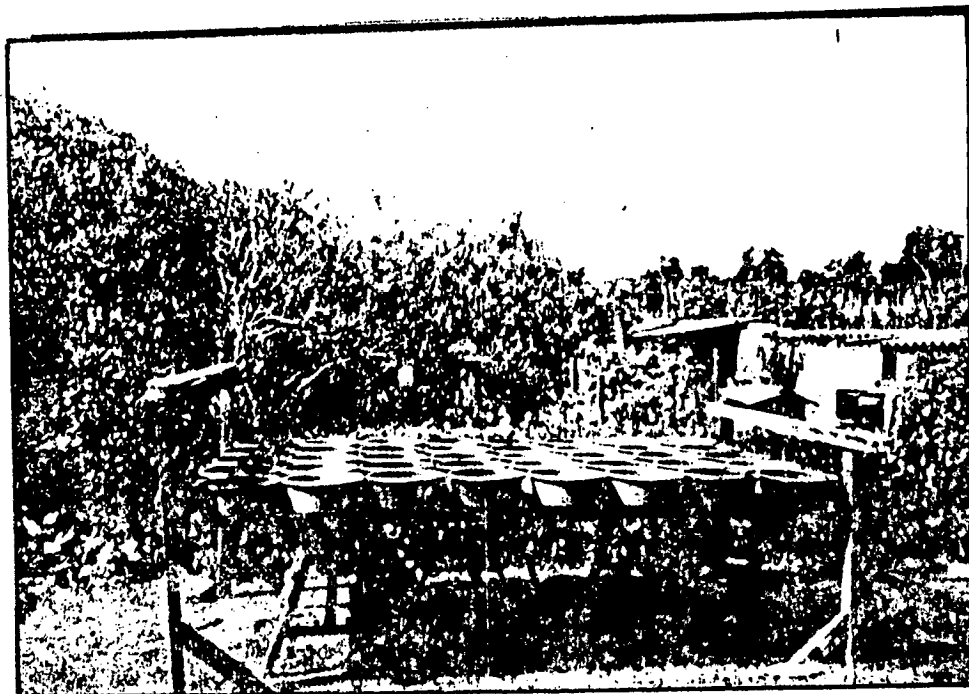
Al momento de la cosecha se tomaron 10 plantitas de helecho en cada tratamiento y se midió área foliar expresada en cm^2 .

El experimento se montó en una mesa de madera de 1.0 mt. de alto y 1.75 mt. x 2.75 mt. construída en un patio abierto de la casa localizada en el Barrio las Majadas, Zona 1 de Chimaltenango, Cabecera departamental.

Los datos una vez tabulados se analizaron de acuerdo al método expresado anteriormente.



Fotografía No. 1. Vista directa al arreglo y aleatorización de los tratamientos y sus repeticiones.



Fotografía No. 2. Observación directa del montaje del experimento en el campo.

VII. RESULTADOS Y DISCUSION

1. DISCUSION GENERAL DE RESPUESTAS

Los resultados de peso de la biomasa seca, el porcentaje de nitrógeno y área foliar serán la base de discusión de este trabajo. Se trata de integrar la discusión de estas variables respuestas obtenidas en los tratamientos aplicados, para con ello concluir en aspectos generales de importancia sobre la investigación efectuada.

En orden de ideas se presenta un cuadro general sintético de significancias obtenidas en los diferentes Análisis de Varianza (ANDEVA), realizados a los datos.

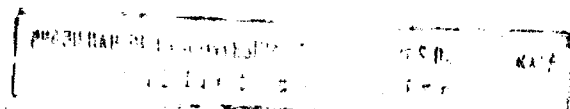
Cuadro No. 2

SIGNIFICANCIAS DE LOS ANALISIS DE VARIANZA PARA LA BIOMASA
PESO SECO (gr), % DE NITROGENO Y AREA FOLIAR (m²)

Variable	Biomasa Peso seco (gr)	% de Nitró- geno.	Area Foliar (cm ²)
Tratamientos	+ +	+ +	+ +
Sustratos	+ +	+ +	+ +
Nivel de pH	+ +	+ +	+ +

+ + Altamente significativo.

Como lo demuestra el cuadro No. 2, existen diferencias significativas entre los tratamientos, y dentro de los niveles de cada uno de los factores evaluados en el experimento, esto da la pauta de utilizar otro tipo de prueba para definir cuál es el mejor tratamiento.



2. RESPUESTA DE LOS TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE LAS VARIABLES TABULADAS

El cuadro No. 2 permite inferir que existe una respuesta a las variables introducidas al experimento.

Para estimar cuál ó cuáles tratamientos fueron los mejores se efectuó una prueba de comparación de medias, usando TUKEY.

Los cuadros Nos. 3-5 presentan las medidas alcanzadas por cada uno de los tratamientos, de los sustratos y de los niveles de pH. Al mismo tiempo, muestra el análisis de las medias y su significancia lograda a lo largo del experimento.

Cuadro No. 3

COMPARACION DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS Y SU SIGNIFICANCIA

Tratamiento	Biomasa (peso seco gr./m ²)	Tratamiento	% de Nitrógeno	Tratamiento	Area Fo- liar/cm ² .
ATMS	3.39	ATMS	3.78	ATMS	0.62
ATSM	2.98	ASMS	3.71	ASMS	0.37
ASMS	2.30	ASSM	3.01	ASSM	0.26
ASSM	2.06	APSM	2.78	ATSM	0.19
ALMS	1.84	APMS	2.74	ALMS	0.19
APMS	1.45	ALMS	2.60	APSM	0.16
ALSM	0.99	ALSM	2.57	APMS	0.15
APSM	0.78	ATSM	2.25	ALSM	0.12

Cuadro No. 4

COMPARACION DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS Y SU SIGNIFICANCIA

Sustrato	Biomasa (peso seco gr/m ²)	Sustrato	% de nitrógeno	Sustrato	Area foliar cm ²
A.T.	3.01	A.S.	3.36	A.T.	0.40
A.S.	1.81	A.T.	3.06	A.S.	0.32
A.L.	0.85	A.P.	2.75	A.L.	0.16
A.P.	0.75	A.L.	2.58	A.P.	0.16

Cuadro No. 5

COMPARACION DE MEDIAS DEL pH DE LOS SUSTRATOS Y SU SIGNIFICANCIA

Nivel pH	Biomasa (peso seco gr/m ²)	Nivel pH	% de nitrógeno	Nivel pH	Area foliar cm ²
M.5	1.83	M.5	3.23	M.5	0.33
S.M.	1.38	S.M.	2.65	S.M.	0.18

Tratamientos con línea continúa son estadísticamente iguales

REFERENCIA DEL CUADRO ANTERIOR

Tratamientos:

- APSM = Agua potable sin modificar pH
- APM5 = Agua potable modificando el pH en 5.0
- ASSM = Agua Servida sin modificar pH
- ASM5 = Agua Servida modificando el pH en 5.0
- ATSM = Agua Tratada sin modificar pH
- ATM5 = Agua Tratada modificando el pH en 5.0
- ALSM = Agua Lago Atitlán sin modificar
- ALM5 = Agua Lago Atitlán modificando el pH en 0.5

Sustratos:

- A.P. = Agua Potable
- A.S. = Agua Servida
- A.T. = Agua Tratada
- A.L. = Agua Lago de Atitlán

Nivel de pH:

- M.5 = Modificando el pH en 5.0
- S.M. = Sin modificar el pH.

La comparación de medias de cada tratamiento muestra en el cuadro No. 3 que el más alto rendimiento de biomasa, nitrógeno y área foliar correspondió al tratamiento donde el agua fue enriquecida con nutrientes (agua tratada) y que su pH fue modificado a 5.0. En segundo término la mejor producción de biomasa correspondió al grupo de tratamientos donde el helecho creció en agua tratada con pH natural y los tratamientos de agua servida con pH 5.0 y pH natural respectivamente, lo cual era de esperarse en función del medio ecológico donde inicialmente reporta Aguilera, R. y Cardona, S. (3) se ha colectado el helecho.

El tratamiento con agua del Lago de Atitlán y agua potable con pH sin modificar como era de esperarse mostró el rendimiento de biomasa más bajo. El % de nitrógeno varió un poco en el ordenamiento de las medias con relación a biomasa, aunque en forma similar a ésta, los tratamientos agua del Lago de Atitlán y agua potable, ocuparon los últimos lugares, aunque existe una incongruencia en este resultado, ya que la cantidad más baja de nitrógeno se observó en el agua tratada sin modificar su pH, lo cual no puede ser explicado con la información de este trabajo.

El área foliar tomada también siguió un patrón de ordenamiento diferente a biomasa y aunque ya se dijo que el agua tratada con nutrientes y pH 5.0 manifestó las hojas más grandes al resto de tratamientos, varió ligeramente al ordenamiento de las medias de acuerdo al tratamiento aguas del Lago de Atitlán y agua potable en sus dos niveles de pH (normal y 5.0), los cuales ocuparon los últimos lugares.

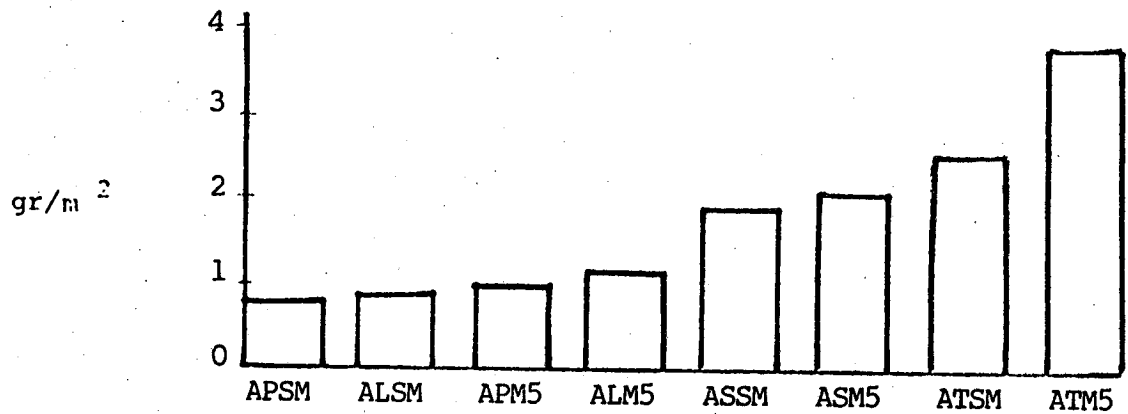
3. EFECTO DEL SUSTRATO SOBRE EL RENDIMIENTO

En el cuadro No. 4 y en la gráfica No. 2, el efecto de los sustratos se observa en el promedio de respuesta, provocado por cada sustrato, mostró que estadísticamente el agua tratada y agua servida favorecieron el mejor rendimiento en biomasa, % de nitrógeno y área foliar de helecho Azolla microphylla, lo cual era de esperarse de acuerdo a que la literatura cita que los helechos prefieren los habitats en mayor cantidad de nutrientes, que les favorezcan en cuanto mayor desarrollo.

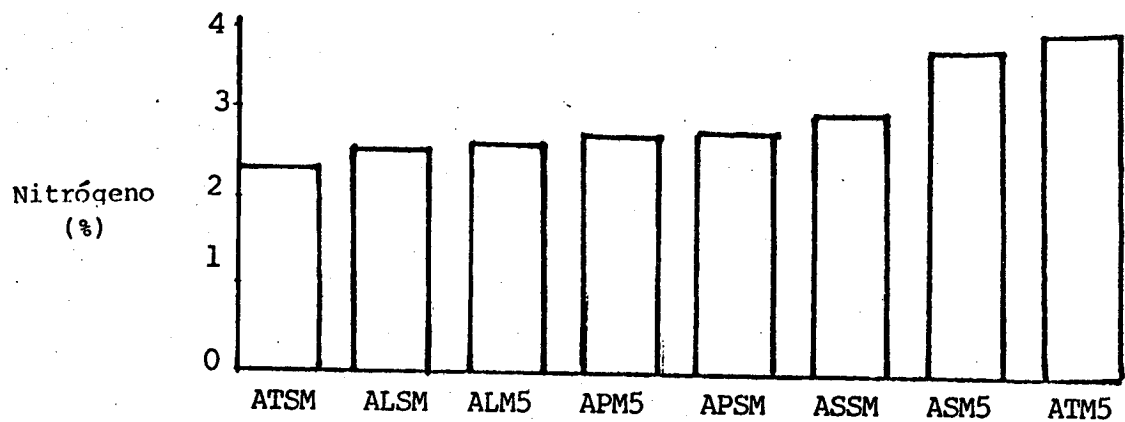
4. EFECTO DEL pH EN LAS VARIABLES ESTUDIADAS

En las gráficas siguientes se puede observar que el promedio de respuestas provocadas por el efecto de pH en los sustratos mostró que estadísticamente el pH ácido favorece la producción de biomasa, % de Nitrógeno y tamaño foliar de helecho Azolla microphylla, lo cual era de esperarse de acuerdo a que la literatura cita que los helechos prefieren los habitats con valores de ácidos abajo de 6.

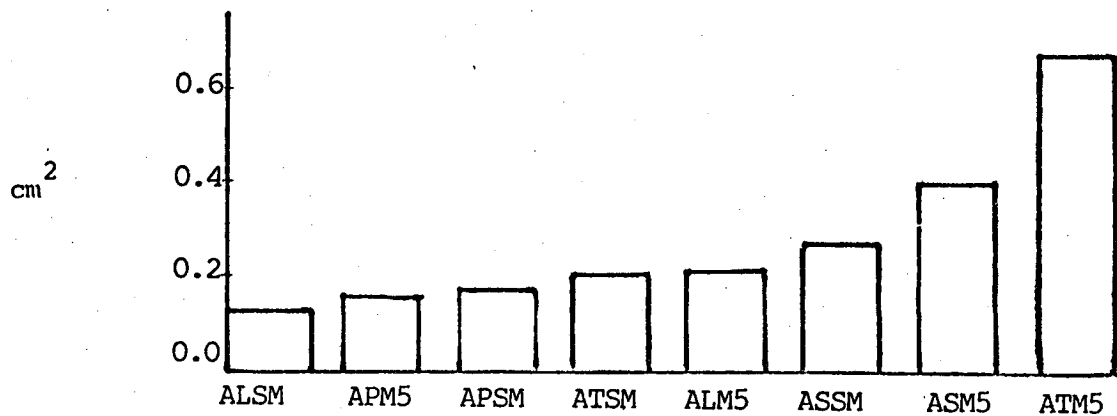
a. Biomasa (peso seco en gramos)



b. % de Nitrógeno

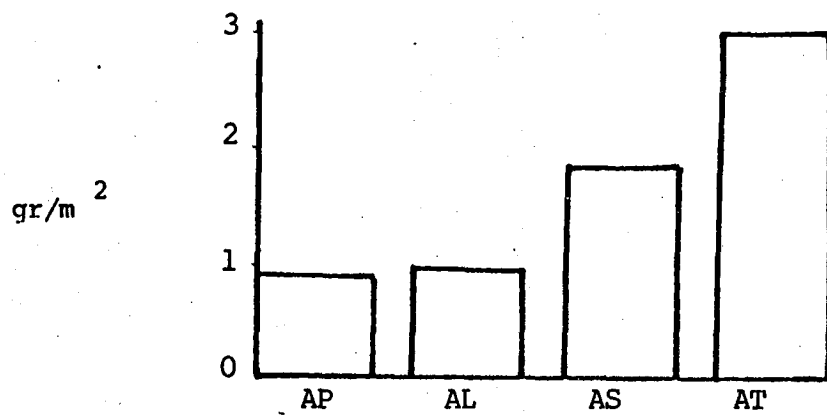


c. Area Foliar

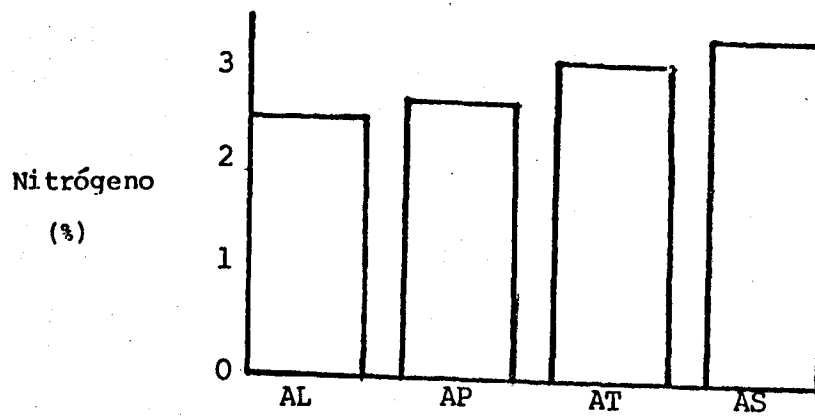


GRAFICA No. 1. EFECTO DE LA INTERACCION SUSTRATO- pH SOBRE EL RENDIMIENTO DE BIOMASA (gr/ m²), NITROGENO FIJADO (%) Y AREA FOLIAR (cm²) DEL HELECHO Azolla microphylla.

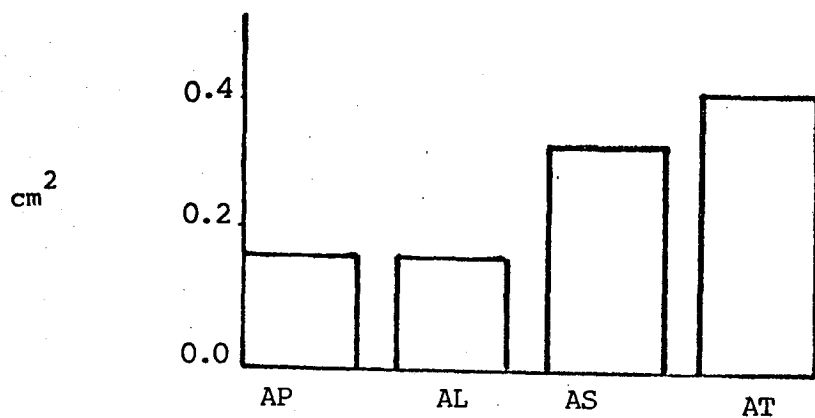
a. Biomasa (peso seco en gramos)



b. % de Nitrógeno

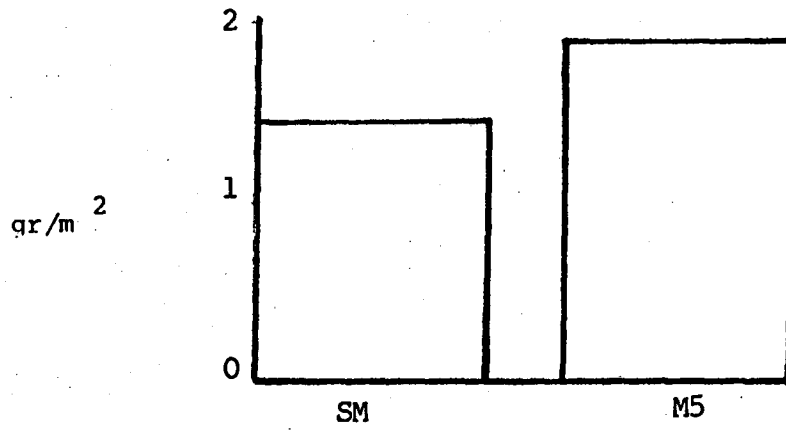


c. Area Foliar

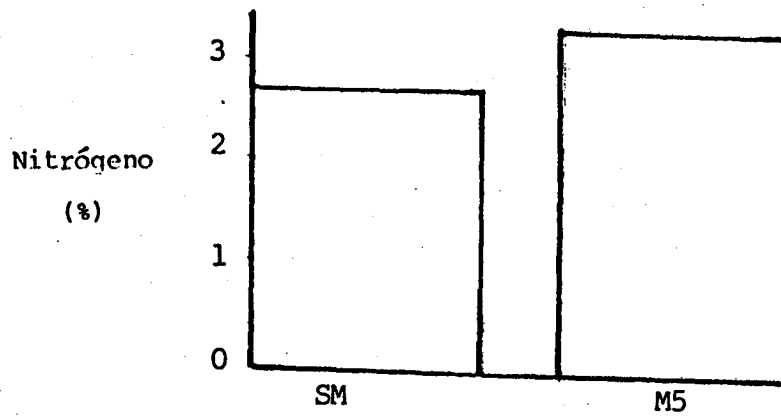


GRAFICA No. 2. EFECTO DEL SUSTRATO SOBRE LA PRODUCCION DE BIOMASA (gr/m²), % DE NITROGENO FIJADO Y AREA FOLIAR (cm²) DEL HELECHO Azolla microphylla.

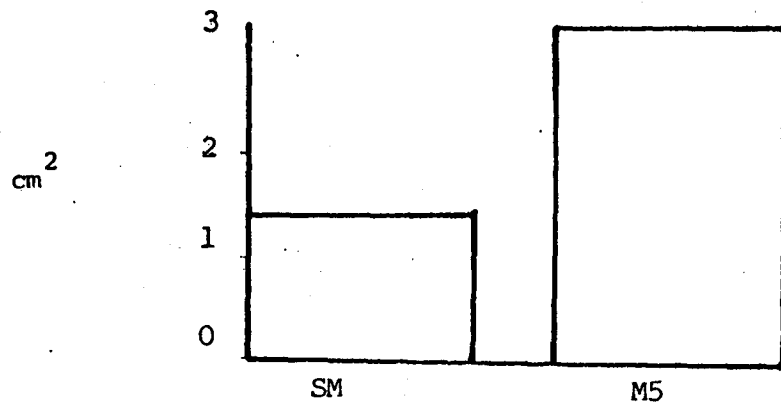
a. Biomasa (peso seco en gramos)



b. % de Nitrógeno



c. Area Foliar



GRAFICA No. 3. EFECTO DEL pH DEL SUSTRATO SOBRE LA PRODUCCION DE BIOMASA (gr/m²), % DE NITROGENO FIJADO Y AREA FOLIAR (cm²) EN EL HELECHO Azolla microphylla.

FE. DE ERRATAS

No.	Dice	Debe leerse.
1	altura	temperatura. Página i
2	Biomasa en Kg/mt ²	Biomasa en Kg/unidad de área. Página 32

Cuadro No. 6

PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA (kg/m²) Y NITROGENO (kg/ha) DE LA SIMBIOSIS Azolla micrphylla - Anabaena sp. BAJO 8 TRATAMIENTOS DE SUSTRATO Y PH DEL MISMO.

Tratamientos	Biomasa en kg/mt ²	kg de N/ha
ATM5	3.39 x 10 ⁻³	15.22
ATSM	2.98 x 10 ⁻³	7.99
ASM5	2.30 x 10 ⁻³	10.13
ASSM	2.06 x 10 ⁻³	7.36
AIM5	1.84 x 10 ⁻³	5.68
APM5	1.45 x 10 ⁻³	4.72
ALSM	0.99 x 10 ⁻³	3.02
APSM	0.78 x 10 ⁻³	2.57

El cuadro No. 6 muestra los kg de N/ha, éstos varían de 2.57 a 15.22 kg/ha de nitrógeno, cantidades que comparadas con la revisión bibliográfica por ejemplo La Agricultura de las Américas (11), muestra de 40 a 50 kg/ha de nitrógeno, y según Venkataaram (46), la inoculación del alga de un beneficio de 25 a 30 kg/ha de nitrógeno, se afirma que la cantidad obtenida en el experimento es relativamente baja.

6. OBSERVACIONES VISUALES SOBRE COLORACION DE HELECHO Azolla microphylla

Como cita la literatura, el efecto de exposición a la radiación directa del sol causa cierta coloración rojiza en el helecho; como una extensión en la toma de datos se optó por observar este fenómeno a lo largo del experimento y se pudo comprobar que efectivamente el helecho se colorea, pero esta coloración no se debió, para el caso de este experimento por efecto de la luz directa del sol, ya que las plantas más vigorosas que crecieron en condiciones de buena nutrición (agua tratada) y pH 5.0 desarrollaron un verde intenso, color que fue variando en otros tratamientos dependiendo básicamente por el sustrato y pH. A continuación se presenta un cuadro que plantea el color que más o menos presentaron las plantas a los 20 días (época de cosecha) en la que ya el color café podría ser provocado por muerte y falta de adaptación del helecho al sustrato.

Cuadro No. 7

COLOR QUE PRESENTARON LAS PLANTAS DE Azolla microphylla
A LOS 20 DIAS DE SEMBRADO EL ENSAYO

TRATAMIENTO	COLOR
ATM5	VERDE
ASM5	VERDE-ROJIZO
ASSM	ROJIZO-VERDE
ATSM	ROJIZO
APM5	ROJIZO-CAFE
ALM5	CAFE-ROJIZO
APSM	CAFE-VERDE
ALSM	CAFE

En función de estos resultados, se cree que es necesario establecer otros estudios que puedan corroborar la información ya existente o den nueva información sobre las posibles otras causas de la coloración rójiza del helecho.

VIII. CONCLUSIONES

1. Las tres variables respuestas analizadas mostraron que entre medias existen significancia, lo cual demostró que las hipótesis planteadas inicialmente se corroboraron, ya que los diferentes sustratos evaluados producen diferente biomasa y fijan diferente porcentaje de Nitrógeno.
2. El sustrato que produjo la mayor cantidad de biomasa, % de nitrógeno fijado y área foliar fue aquel donde los organismos en simbiosis tuvieron mayor cantidad de nutrientes.
3. En el tratamiento agua servida se observó que aunque el helecho no crece igual al tratamiento del agua con nutrientes, se observa un mejor desarrollo, lo que comprueba lo observado por Cardona, S. y Aguilera, R. (8), en relación a donde se recolectó el mismo.
4. El pH 5.0 mostró que favorece el crecimiento del helecho respecto a los pH más altos, lo cual era de esperarse ya que la literatura consultada sobre las condiciones generales de crecimiento natural del helecho así lo mostraba.
5. La cantidad de Nitrógeno fijado es relativamente baja según comparación a lo que reporta la revista Agricultura de las Américas (11) y Venkataram (46).

IX. RECOMENDACIONES

Dado que en Guatemala es la primera investigación de la producción del helecho Azolla sp., en ambientes artificiales se recomienda:

1. Hacer un estudio para afirmar cuál es el mejor pH para su crecimiento.
2. Investigar los elementos que preferentemente busca la Azolla sp. para su desarrollo y su mejor adaptación.
3. Reafirmar las fuentes donde reportaron que existía el helecho Azolla sp., ya que en caso contrario se perdería parte de la investigación que ya fue realizada.
4. Evaluar las otras dos especies reportadas para Guatemala, Azolla filiculoides y Azolla caroliniana, en cuanto a productividad de biomasa, % de nitrógeno fijado y área foliar.

X. BIBLIOGRAFIA

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

Tomado de: *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(12): 67. 1981.
2. AGRUILERA MEJIA, R.G. s.f. La fijación de N₂ atmosférico por -- Rhizobium, su importancia y alternativas para Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 16 p.
3. APP, A.; EAGLESHAM, A. 1981. Biological nitrogen fixation problems and potential. In *Biological nitrogen technology for tropical agriculture*. Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali, Col., CIAT. P. 1-7.
4. 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.

Tomado de: *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(6): 100. 1981.
5. _____, DONZE, M. 1981. Pigment distribution and nitrogen fixation in *Anabaena azollae*. *Plant and Soil (Netherlands)* 61:203-226.
6. BRILL, W.J. s.f. Fijación biológica del nitrógeno atmosférico. s. n.t. 40 p.
7. 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.
8. CARDONA, S.; AQUILERA, R. 1987. Investigación de zonas potenciales de distribución geográfica del helecho Azolla en Guatemala; identificación y caracterización de sus especies. Tesis Ing. Agr. - Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. p. 2-29.
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.

Tomado de: *Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands)* 7(6): 100-101. 1981.
10. CONN, E.; STUMPF, P.K. 1977. *Bioquímica fundamental*. Trad. por Gabriel Velasco, Emiliano Cabrera. 3 ed. México, D.F. Limusa. 628 p.

11. EFFERSON, N. 1986. Fijación biológica del nitrógeno; alternativa prometedora para el arroz, cuando los fertilizantes químicos son demasiado caros o escasos. Agricultura de las Américas (E.E.U.U) 35(10):28-31.
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.

Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(3): 49-50. 1981.
13. FAUST, H.; SEBASTIANELLI, J.; AXMANN, H. 1987. Manual de laboratorio sobre métodos de rutina para la preparación y análisis de material biológico marcado con 15N. Viena, IAEA., Agricultural Laboratory. p. 40-42.
14. FERRA, C.R. 1980. Preliminary study on Azolla sp. and aquatic fern with agronomic potential for the humid tropics of México. Revista Latinoamericana de Microbiología (México) 22(4):171-174.
15. _____. 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.
16. _____. MIRANDA, A. 1981. Propagación of an Azolla sp. and its potential as a green manure for corn in México. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed. by Graham, P.; Harris, S. Cali, Col., CIAT. p. 561-564.
17. FLORIDA. SERVICIO COOPERATIVO DE EXTENSION DE LA FLORIDA. Algas; biología y contro. 1983. Agricultura de las Américas (E.E.U.U.) 32(2):28-30, 49.
18. FRANDA, M. 1980. Kettering's nitrogen fixers. E.E.U.U., American Universities Field Staff. Report no. 15 p. 5-9.
19. GALSTON, A.W. 1975. The water fern-rice connection. Natrual History (E.E.U.U) 84(10):10-11.
20. HOLDRIGE, L.R. 1982. Ecología basada en zonas de vida. Trad. por Humerto Jiménez. San José, C.R., IICA. 216 p.
21. 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.
22. INDONESIA. CENTRE FOR TROPICAL BIOLOGY. 1979. The effect of Azolla pinnata R. Br. on rice growth. Biotrop Bulletin (Indonesia) no. 11:193-200.

23. JANIYA, J.D.; MOODY, K. 1981. Weed suppression in transplanted rice with Azolla pinnata R. Br. International Pest Control (UK) 23(5): 136-137.
24. KANNAIYAN, S.; GOVINDARAJAN, K.; LEWIN, H.D. 1982. Influence of blue green algal application in rice crop. Madras Agricultural Journal (India) 69(1):1-5.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 8(11): 76. 1982.
25. LI, Z.; ZU, S.; MAO, M. 1982. Study on the utilization of eighth -- Azolla sp. in agriculture. 1. An investigation of their utilization properties. Scientia Agricultura Sinica (China) no. 1: 19-27.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 8(1): 112. 1982.
26. LUMPHIN, 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.
27. _____. 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.
28. 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.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(7): 48. 1980.
29. MICKEL, J.T. s.f. Ferns and fern allies. Iowa, s.m. p. 60-61.
30. MISRA, R.V. 1979. Raising blue-green algae is easy. Intensive Agriculture (India) 26(2):14-15.
31. 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 de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Fitopublicaciones no. 2. p. 8-9.
32. RAINS, D.W.; TALLEY, S.V. 1979. Use of Azolla in North America. In Symposium on nitrogen and rice. (1979, Philippines). s.l., -- International Rice Research Institute. p. 419-431.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(6): 101. 1981.

33. 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.
34. ROGER, P.A.; KULASOORIYA, S.A. 1980. Blue-green algae and rice. International Rice Research Institute (Philippines) 6(7):119.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(7): 72. 1981.
35. 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.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 3(10): 92. 1977.
36. _____. 1977. Effect of Azolla on the yield of paddy with and without application of N fertilizer. Current Science (India) 46(18): 642-644.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(7): 48. 1978.
37. _____. 1980. Introduction of green Azolla biofertilizer in India. Current Science (India) 49(4):155-156.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 6(7): 48. 1980.
38. _____. 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.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(10): 101. 1981.
39. SRINIVASAN, S. 1981. Azolla manuring rectifies zinc deficiency. International Rice Research Newsletter (Philippines) 6(3):22-23.
- Tomado de: Abstracts on Tropical Agriculture (Netherlands) 7(9): 81. 1981.
40. STANLEY, T.D. 1982. Plantas acuáticas, informe australiano sobre malezas de importancia mundial. Agricultura de las Américas (E.E.U.U.) 31(6):24-25.
41. STOLZE, R. 1983. Ferns and allies of Guatemala. E.E.U.U., Field -- Museum of Natural History. Fieldiana Botany, New Series no. 12. 68 p.
- Citado por: CARDONA, S. 1987. Investigación de zonas potenciales de distribución geográfica del helecho Azolla en Guatemala.

XI. APENDICE

A. DETERMINACION DE NITROGENO TOTAL EN MATERIAL VEGETAL POR EL METODO KJELDAHL

Principio:

En el método Kjeldahl, el nitrógeno de la muestra es convertido en amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, por digestión con H_2SO_4 , concentrado, en presencia de catalizadores (Se-Cu), oxidante (H_2O_2) y K_2SO_4 , para aumentar el punto de ebullición, con el fin de favorecer la oxidación de la materia orgánica. Terminada la digestión, se procede a destilar el material digerido, en medio alcalino, liberando todo el nitrógeno como NH_3 , el que se recibe cuantitativamente en una alícuota de HCl 0.1 N (25.0 ml) que se titula con NaOH 0.1 N e inmediatamente se acidula.

Seguiremos un ejemplo de la técnica básica para la determinación de N total, en donde no se incluyen los nitratos, ya que frecuentemente constituyen una parte despreciable con respecto al N total. (13).

Equipo y materiales:

- 1) Digestor semimicro, para 6 balones de 100 ml.
- 2) Aparato de destilación semimicro-Kjeldahl, para 6 balones de 100 ml.
- 3) Balones Kjeldahl, de 100 ml.
- 4) Balones-erlenmeyer para titulación, de 100 ml.
- 5) Bureta automática, graduada a 0.01-0.15 ml, de 25 ml.
- 6) Dispensador, de 50 ml.
- 7) Pipeta volumétrica, de 20 ml.
- 8) Piceta para agua destilada
- 9) Piceta para H_2O_2 30% vol.
- 10) Piceta para NaOH 50%
- 11) Cucharita calibrada para 1.7-2 g de mezcla reactiva de selenio
- 12) Gotero par indicador
- 13) Bolitas de vidrio o piedras pómez (granos), para facilitar ebullición.
- 14) Soporte-baño de arena, para balones Kjeldahl.
- 15) Gradilla para balones de 100 ml. (13).

Reactivos:

- 1) Mezcla reactiva de selenio 500 partes de Na_2SO_4 (o K_2SO_4), 8 partes de CuSO_4 , 8 partes de selenio p.a.
- 2) H_2O_2 30% en volumen, p.a.
- 3) H_2SO_4 concentrado, p.a.
- 4) NaOH p.a. al 50% en peso
- 5) Solución estándar de HCl 0.1 N, p.a.
- 6) Solución estándar de NaOH N p.a.
- 7) Indicador mixto, rojo de metilo-azul de metileno: 0.-250 g de azul de metileno y 0.5 g de rojo de metilo, en 100 ml de alcohol de 70°. (13).

Digestión:

- 1) Pesar 0.3 grs. de muestra e introducirlos cuantitativamente en un balón Kjeldahl seco, de 100 ml. Anotar en la planilla de registro de análisis (Plla. II) el número de la muestra, número de balón y peso exacto de la muestra.
- 2) Agregar 5 ml de H_2SO_4 conc. y mezclar el contenido, imprimiendo al balón un movimiento giratorio; cuidando que no quede la muestra, sin humedecer, adherida a las paredes.
- 3) Agregar, con cucharita calibrada, 1.7 g de mezcla reactiva de selenio y homogenizar.
- 4) Calentar hasta que se haya aclarado la disolución (coloración amarillo marrón claro). A partir de este instante, continuar la digestión por espacio de 30 min. Luego, pasar el balón al soporte de arena y dejar enfriar.
- 5) Se enfría al terminar la digestión. El color final es ligeramente celeste, proveniente del Cu_2SO_4 de la mezcla reactiva de selenio. (13).

Destilación:

- 1) Agregar agua destilada al balón de la muestra digerida, hasta un volumen aproximado de 40 ml., disolver el precipitado con movimientos giratorios.

- 2) Agregar una gota de indicador y 1 ó 2 piedras pomez para la ebullición. Dejar con hielo ó refrigeradora.
- 3) En un balón-erlenmeyer para titulación, introducir, cuantitativamente, 15 ml. de HCl 0.1 N y una gota de indicador. Colocar en el extremo del tubo colector del refrigerante (éste, sumergido en la solución de HCl), para recibir el destilado burbujeando.
- 4) Inclinando el balón, en posición tal que forme un ángulo de 45°, se vierte una cantidad de NaOH al 50% suficiente para alcalinizar, mejor en exceso, es decir, + hasta un 60-70 de volumen aproximado, a manera que resbale por el cuello del balón, llegando al fondo del mismo, sin mezclarse con su contenido.
- 5) Se lleva al destilador, con movimientos suaves, se conecta y se imprime al balón un movimiento de giro para que se produzca la mezcla íntima de su contenido.
Se deja inmediatamente en el calefactor, ya caliente para evitar peligros de reabsorciones. El color verde indica que el medio es alcalino.
- 6) Contar el tiempo a partir del instante en que comienza a destilar y continuar la destilación durante 8 min.
- 7) A los 8 min. se baja el nivel de balón de titulación de manera tal que el extremo del tubo colector del refrigerante no quede sumergido en la solución de HCl NH₄Cl y se continúa la destilación por espacio de 2 min. para el lavado interior del tubo.
- 8) Se retira el balón de titulación, lavado al mismo tiempo el extremo del tubo del refrigerante con H₂O destilada (13).

Titulación:

- 1) Titular el exceso de HCl 0.1 N, con NaOH, hasta viraje del indicador - color verde nítido.
- 2) Hacer la lectura de los ml de NaOH 0.1 N utilizados y anotarlos en la planilla de registro de análisis (Plla. II).

3) Acidificar con HCl 0.1 N (0.5 ml), para evitar pérdidas de N. (13).

B. SOLUCION PARA EL AGUA TRATADA (47).

CaHPO_4 ó $\text{Ca}_2(\text{HPO}_4)_2$	1 gr. / Lt.
K_2HPO_4	0.2 " "
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2 " "
NaCl	0.2 " "
FeCl_3	0.1 " "
Trace metal Soln	1.0 ml.
pH	7.0
Trace metal	Soln/Lt.
Boric Acid	0.5 gr.
ZnSO_4	0.5 " "
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.5 " "
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.02 " "
NaMoO_4	0.05 " "

C. ANALISIS DE LOS SUSTRATOS, AGUA POTABLE, AGUA SERVIDA y AGUA DEL LAGO DE ATITLAN.

MINISTERIO DE AGRICULTURA							
DIRECCION TECNICA DE RIEGO Y AVENAMIENTO							
LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA							
Proyecto: _____			Fecha: _____				
Procedencia	AGUA POTABLE	AGUA SERVIDA CHIVALTENANGO	LAGO DE ATITLAN				
Identificación	89-114	89-115	89-116				
PH	7.90	7.39	8.16				
CEX10 ⁻⁶ a 25 C°	235	242	488				
Sólidos en Solución P.P.M.							
Suma de Cationes Meq/litro	2.51	2.30	4.77				
Suma de Aniones Meq/litro	2.68	2.45	4.67				
Mili equivalentes por Litro	Cationes	Ca ⁺⁺	1.00	1.00	1.10		
		Mg ⁺⁺	0.71	0.53	1.68		
		Na ⁺	0.74	0.59	1.85		
		K ⁺	0.06	0.18	0.14		
	Aniones	CO ³⁻	0.00	0.00	0.73		
		HCO ³⁻	2.46	2.29	3.21		
		CL ⁻	0.22	0.16	0.56		
		NO ³⁻					
		SO ⁴⁻	TRAZAS		0.18		
Y Sodio soluble	29.48	25.63	38.78				
RAS	0.80	0.67	1.57				
Na ₂ CO ₃ RES	0.75	0.76	1.15				
CLASE	C 8 2 1	C 8 1 1	C 8 2 1				

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
AREA TECNOLOGICA
SUBAREA DE PROTECCION DE PLANTAS
LABORATORIO DE DIAGNOSTICO

No. _____
FECHA _____

D. RESULTADOS DE LABORATORIO
DE ENTOMOLOGIA.

Señor
José D. Castro

Atentamente trasladamos a usted los resultados del análisis efectuado en este laboratorio

Muestra analizada hojas del helecho Azolla microphylla
Proceso utilizado observación al estereoscopio

RESULTADO	HONGO	<input type="checkbox"/>	NEMATODO	<input type="checkbox"/>	BATERIA	<input type="checkbox"/>
	INSECTO	<input checked="" type="checkbox"/>	ACARO	<input type="checkbox"/>	OTRO	<input type="checkbox"/>

GENERO (S) Familia Sesiidae (Aegeriidae)

Recomendaciones de control:

A. CULTURAL Extraer las larvas con pinzas o con un alambre, para sanar la planta.

B. QUIMICO No se puede aplicar, por el medio, por contaminación del agua.

OBSERVACIONES: Se recomienda no aplicar insecticidas, para no
contaminar el agua.

" ID Y ENSEÑAD A TODOS "

f) Byron Zuñiga
Responsable

Vo.Bo.

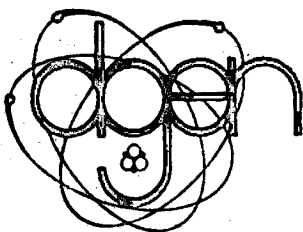
f) [Signature]
Ingeniero Agrónomo

DONACION: El beneficiario dona al Centro de Diagnóstico el o
los siguientes materiales:

f) _____

Fecha _____

Recibido f) _____
Ingeniero Agrónomo



MINISTERIO DE ENERGIA Y MINAS
DIRECCION GENERAL DE ENERGIA NUCLEAR

E. INFORME DE ANALISIS DE

CODIGO RQ-A-013 NORMALIDAD DEL ACIDO CLORHIDRICO
MUESTRA: 1 Solución Acuosa de Acido Clorhidrico
FECHA DE INGRESO: 12 de septiembre de 1989
FECHA DE ANALISIS: 12 de septiembre de 1989
FECHA DE INFORME: 13 de septiembre de 1989
SOLICITANTE: Ing. Agr. Carlos Sanabria, Sección Agropecuaria
ANALISIS: Determinación de la Concentración Normal de Acido Clorhidrico.
METODO: Valoración con Hidróxido de Sodio patrón utilizando Fenolftaleína como indicador.

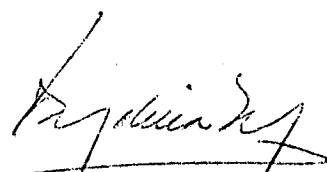
RESULTADOS:

Identificación	Concentración
Replica No.1	0.09430 meq/ml.
Replica No.2	0.09479 meq/ml.
Replica No.3	0.09479 meq/ml.
Replica No.4	0.09479 meq/ml.
Media	0.09467 meq/ml.
Varianza	0.00025 meq/ml.
CV	0.26 %

CONTROL DE CALIDAD

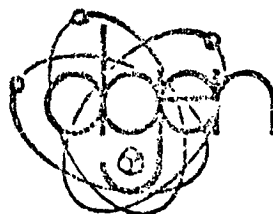
Dos muestras de Acido Sulfurico 0.10000 meq/ml durante el análisis, aportaron los siguientes resultados:

Control 1	0.10025 meq/ml
Control 2	0.09976 meq/ml
Media	0.10001 meq/ml
Varianza	0.00035 meq/ml
CV	0.35 %
Error Relativo	0.01 %


Lic. Sergio E. Molina M.
Químico
Jefe Sección Radioquímica

/mjoa*

DIRECCION GENERAL



DE ENERGIA NUCLEAR
GUATEMALA, C. A.

F. ANALISIS DE VARIANZA DE LAS VARIABLES RESPUESTA, BIOMASA, % DE NITROGENO Y AREA FOLIAR.

ANALISIS DE VARIANZA DE: Rendimiento en Gramos de Peso Seco

F.V.	G.L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIGNIFICANCIA
TRATAM	7	29.842560	4.263	23.428	0.0000
A	3	26.297080	8.7666	48.192	0.0000
B	1	1.665314	1.665	9.156	0.0059
AB	3	1.880165	0.627	3.446	0.0320
ERROR	24	4.365402	0.182		
TOTAL	31	34.207960			

Coefficiente de Variación: 24.9956%

ANALISIS DE VARIANZA DE: Porcentaje de Nitrógeno Fijado

F.V.	G.L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIGNIFICANCIA
TRATAM	7	8.970001	1.281	23.827	0.0000
A	3	2.810974	0.937	17.423	0.0000
B	1	2.662201	2.662	49.502	0.0000
AB	3	3.496826	1.166	21.674	0.0000
ERROR	24	1.290711	0.054		
TOTAL	31	10.260710			

Coefficiente de Variación 7.8938%

ANALISIS DE VARIANZA DE: Area Foliar en Cms²

F.V.	G.L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIGNIFICANCIA
TRATAM	7	0.78	0.11	44	0.0000
A	3	0.36	0.12	48	0.0000
B	1	0.18	0.18	72	0.0000
AB	3	0.24	0.08		0.0000
ERROR	24	0.06	15x10 ⁻³		
TOTAL	31	0.84			

Coefficiente de Variación: 19.39%

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA


Referencia

Asunto

15 de marzo de 1990

"IMPRIMASE"




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