



JOURNAL OF THE
**Selva Andina
Biosphere**
Official Journal of the Selva Andina Research Society.

Nota Técnica

ISSN 2308-3867 (print edition)
JSAB
ISSN 2308-3859 (online edition)

Efecto biofertilizante de azolla - anabaena en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

Fertilizer effect Azolla - Anabaena in maize (*Zea mays* L.)

Aldás-Jarrín Juan Carlos*, Zurita-Vásquez José Hernán, Cruz-Tobar Saul Eduardo,
Villacís-Aldaz Luís Alfredo, Pomboza-Tamaquiza Pedro Pablo, León-Gordón Olguer Alfredo

Datos del Artículo

Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Técnica de Ambato, Tungurahua, Ecuador.
Casilla postal: 18-01-334.
Telf: (+593)032872630-0985471191
jh.zurita@uta.edu.ec
se.cruz@uta.edu.ec
la.villacis@uta.edu.ec
pp.pomboza@uta.edu.ec
oa.leon@uta.edu.ec

*Dirección de contacto:

Juan Carlos Aldás Jarrín
Facultad de Ciencias Agropecuarias.
Universidad Técnica de Ambato.
Tungurahua, Ecuador.
Casilla postal: 18-01-334.
Telf: (593) 032843583 - 0980268813
E-mail: jc.aldas@uta.edu.ec

Palabras clave:

Bio nitrificante,
Fijación,
método Kjeldahl,
Tratamiento,
Dosis.

J Selva Andina Biosph.
2016; 4(2):109-115.

Historial del artículo.

Recibido abril, 2016.
Devuelto septiembre 2016
Aceptado octubre, 2016.
Disponible en línea, noviembre 2016.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Resumen

El deterioro de los recursos naturales en las actividades agrícolas, ha motivado la búsqueda de nuevas alternativas que permitan enriquecer el suelo con macro y micro nutrientes de manera sostenible, para beneficio de las futuras generaciones, igualmente se piensa en la conservación y mantenimiento del agua, evitando problemas de eutrofización por la acumulación de fertilizantes (nitratos y nitritos) lixiviados y desembocados en fuentes naturales, con este propósito se han medido varias opciones agroecológicas que brindan una nutrición adecuada y un delicado equilibrio ecológico, en la presente investigación a nivel de campo en el cultivo de maíz se aplicó diferentes estados y dosis de azolla como fuente natural de nitrógeno para enriquecer el suelo en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Se prepararon seis mezclas de sustratos de azolla con suelo de la localidad, basados en el estado de azolla y la dosis establecida para dicha elaboración, los estados de azolla estudiados fueron: A1 en estado seco y, A2 en estado fresco; las dosis se establecieron en relación al volumen de Azolla frente al volumen de suelo utilizado: (0.5:1), (0.75:1) y (1:1). Los datos recopilados fueron altura de planta y porcentaje de nitrógeno en materia seca a los 15, 30, 60 y 90 días. Todo esto con la finalidad de establecer la cantidad de nitrógeno aportado por azolla como biofertilizante en el cultivo de maíz. Los mejores resultados se presentaron en el tratamiento A1D3 (azolla en estado seco-Dosis 1:1) teniendo en altura de planta 15.02 cm a los 15 días, 35.88 cm a los 30 días, 53.22 cm a los 60 días y 66.12 a los 90 días; para porcentaje de nitrógeno 0.54 % a los 15 días, 0.90 % a los 30 días, 1.68 % a los 60 días y 2.08 % a los 90 días. En conclusión, el uso de la azolla como un biofertilizante rico en nitrógeno es factible, ya que se ha podido demostrar en esta investigación que la planta de maíz se beneficia del aporte de este material, mejorando las prácticas agrícolas sostenibles. Se recomienda ampliar esta investigación en este mismo cultivo o en otros cultivos de importancia comercial hasta terminar su ciclo productivo, para reportar los resultados obtenidos en estos.

© 2016. *Journal of the Selva Andina Biosph. Bolivia. Todos los derechos reservados.*

Abstract

The deterioration of natural resources in agricultural activities, has motivated the search for new alternatives to enrich the soil with macro and micro nutrients sustainably, for the benefit of future generations, just as you think about the conservation and maintenance of water, avoiding eutrophication problems by the accumulation of fertilizers (nitrates and nitrites) leached and deposited in natural sources, for this purpose they have been measured several agro ecological options that provide proper nutrition and a delicate ecological balance; in this investigation at field level in maize cultivation and different states it applied dose of azolla as a natural source of nitrogen to enrich the soil in the canton Cevallos, Tungurahua province. Anabaena floors of the town, based on the state of azolla and the level established for such preparation, the states of azolla. Six mixtures were prepared substrates azolla studied were: Dry A1 and A2 in the fresh state; the doses were established in relation to the volume of azolla against soil volume used: (0.5: 1) (0.75: 1) and (1: 1). The data collected were plant height and percentage of nitrogen in dry matter at 15, 30, 60 and 90 days. All this in order to establish the amount of nitrogen contributed by azolla as biofertilizer in growing corn. The best results were presented at

Key words:

Bio nitrificante,
fixation,
Kjeldahl method,
treatment,
dose.

the A1D3 (azolla dry-Dose 1: 1) treatment given plant height 15.02 cm at 15 days, 35.88 cm 30 days, 53.22 cm 60 66.12 days and 90 days; to 0.54% nitrogen percentage at 15 days, 0.90% at 30 days, 1.68% at 60 days and 2.08% after 90 days. In conclusion, the use of Azolla as a bio-fertilizer rich in nitrogen is feasible, as has been demonstrated in this research that the corn plant benefits from the contribution of this material, improving sustainable agricultural practices. It is recommended to expand this research in the same crop or other commercially important crops until the end of its production cycle, to report the results of these.

© 2016. Journal of the Selva Andina Biosph. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

En la mayoría de los círculos agrícolas científicos se ha llegado a la percepción general de que la agricultura enfrenta una crisis ambiental. La raíz de esta crisis radica en el uso de prácticas agrícolas intensivas basadas en el uso de altos insumos que conlleva a la degradación de los recursos naturales a través de procesos de erosión de suelos, salinización, contaminación con pesticidas, desertificación, pérdida de la fitomasa y por ende reducciones progresivas de la productividad. (Altieri 1994)

Según (González *et al.* 1969), Azolla (*Azolla filiculoides* Lam.) es un helecho acuático que tiene la característica de asociarse con cianobacterias en los cuerpos de agua, especialmente con *Anabaena* (*Anabaena azollae* Strass.) y de esta manera fijar nitrógeno atmosférico, característica que está ubicando a este pequeño organismo en el ojo de varias investigaciones de distinta índole, ya que se lo está probando como alimento para especies animales, también como biorremediador de aguas contaminadas y dentro de la actividad agrícola se lo está experimentando como abono verde.

La Azolla es un organismo de fácil propagación y tratamiento, esta especie se adapta bien a diferentes climas y pisos altitudinales por lo que la factibilidad de realización de esta investigación es alta, ya que no requiere de tecnologías complicadas y está al alcance de los productores agrícolas.

Entre las opciones agroecológicas se destaca la *Azolla-Anabaena* que es una asociación simbiótica entre

el helecho de agua azolla (*Azolla filiculoides* Lam.) y la cianobacteria anabaena (*Anabaena azollae* Strass), esta cianobacteria tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, alcanzando los 1200 Kg de nitrógeno fijado por hectárea y por año bajo condiciones óptimas de temperatura, suelo y composición química de suelo y agua (Montaño 2005)

Por este motivo se considera que *Azolla-Anabaena* puede ser una fuente natural de nitrógeno muy importante dentro de la agricultura.

La agricultura orgánica ha surgido con gran prioridad desde el punto de vista de crecimiento, demanda, salud, desarrollo de la sustentabilidad y preocupación sobre la contaminación ambiental (Mishra *et al.* 2012). Los biofertilizantes son productos formulados por microorganismos, que proveen y mejoran la disponibilidad de nutrientes. Los bio fertilizantes son empleados como bio inoculantes que ayudan al suelo a obtener un mejor calidad en cuanto a los nutrientes presentes en este (Sharma *et al.* 2012). El empleo de Azolla como biofertilizante es una de las opciones para mejorar los suelos, ya que la azolla posee 4-5%N de forma seca y del 0.2-0.4% N húmeda. Una de las ventajas de emplear la Azolla como fertilizante es su fácil descomposición en el suelo y la eficiente forma de obtener nitrógeno y contribuye al suelo con P, K, S, Zn, Fe, Mb y otros micronutrientes. (Mishra *et al.* 2012)

Además de la idoneidad ambiental del uso de Azolla, para multitud de agricultores en muchas partes del mundo que no pueden pagar los fertilizantes

químicos, la aplicación Azolla puede mejorar su situación económica, aumentando los rendimientos y minimizando los costos. (Wagner 1997), con los antecedentes previamente mencionados, esta investigación pretende evaluar el efecto bionitrificante del helecho de agua Azolla (*Azolla filiculoides* Lam.) asociado con Anabaena (*Anabaena azollae* Strass.) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.).

Materiales y métodos

El trabajo de investigación se llevó a cabo en la Granja Experimental Docente Querochaca de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, localizados a una altitud de 2886 msnm., a 15 Km al sur de la ciudad de Ambato, entre las coordenadas 1°22'09" de latitud sur y 78°36'30" de longitud oeste respecto al meridiano de Greenwich. (Instituto Geográfico Militar 1996). Se preparó sustratos con dos estados de azolla: "azolla fresca" y "azolla seca". La unidad de análisis fue maíz dulce (*Zea mays* L.)

Para recolectar la Azolla se utilizó una red de pesca activa de arrastre. La azolla utilizada "fresca" se

cosechó tres días antes de la preparación del sustrato, realizando únicamente un escurrido para bajar el exceso de humedad. La Azolla seca fue colocada sobre una superficie limpia a temperatura ambiente por 21 días en una estructura bajo cubierta para evitar el efecto de factores climáticos como la lluvia, toda la azolla, "fresca" y "seca", así como el suelo utilizado para la elaboración de los sustratos, fue desinfectado con VITAVAX® 300 PM (Carboxin + Captan) con una dosis de 2 g/Kg. de sustrato 48 h antes de su utilización, para evitar enfermedades fúngicas asociadas con el suelo como *Phytium* o *Fusarium*. El ensayo se realizó en campo abierto pero para la siembra se utilizó envases de polietileno perforadas de 35 cm x 20 cm., con el objetivo de determinar la cantidad exacta de azolla utilizada, frente a la cantidad de suelo. Los sustratos fueron preparados mezclando la azolla fresca y seca con suelo sin azolla recogido de la misma zona del ensayo.

La dosis de azolla, se definieron en base a una relación volumétrica, la que posteriormente fue expresada en porcentaje de azolla con respecto al peso total del suelo. (Tabla 1)

Tabla 1 Detalle de dosis de azolla en volumen, peso y porcentaje

Azolla	Dosis	Volumen (l.)	Total	Peso (Kg.)	Total	Porcentaje (%)	Total
(A1) Seca	(D1) 0.5:1	5 l-10 l	15 L	1.5 Kg-12 Kg	13.5 Kg	11.1-89.9	100%
	(D2) 0.75:1	7.5 l-10 l	17.5 L	2.25 Kg-12 Kg	14.25 Kg	15.8-84.2	100%
	(D3) 1:1	10 l-10 l	20 L	3 Kg-12 Kg	15 Kg	25-75	100%
(A2) Fresca	(D1) 0.5:1	5 l-10 l	15 L	4.5 Kg-12 Kg	16.5 Kg	27.27-72.73	100%
	(D2) 0.75:1	7.5 l-10 l	17.5 L	6.75 Kg-12 Kg	18.75 Kg	36-64	100%

Los sustratos preparados fueron colocados en envases de polietileno, a razón de 5 Kg por envase, en cada envase se agregó 3 semillas de maíz dulce. Los factores de estudio fueron: altura de planta en centímetros a los 15, 30, 60 y 90 días, tomada con un

flexómetro desde la base del tallo hasta la hoja más prominente en la parte aérea de la misma, y porcentaje de nitrógeno en materia seca tomando muestras de hojas frescas en las mismas fechas que se tomó la

altura de planta, para su posterior análisis de laboratorio utilizando el método Kjendahl. (AOAC 2000) El diseño experimental utilizado fue de Bloques Completamente al Azar de 2x3 con 3 repeticiones, es decir, se evaluaron dos tipos de azolla “seca” y “fresca” y tres dosis de sustrato 0.5:1; 0.75:1 y 1:1, obteniendo de esta forma 6 tratamientos: A1D1 (Azolla seca + Dosis 0.5:1); A1D2 (Azolla seca +

Dosis 0.75:1); A1D3 (Azolla seca + Dosis 1:1); A2D1 (Azolla fresca + Dosis 0.5:1); A2D2 (Azolla fresca + Dosis 0.75:1) y A2D3 (Azolla fresca + Dosis 1:1). Para el análisis estadístico se utilizó el sistema INFOSTAT, mediante el cual se determinó el análisis de varianza y las pruebas de Tukey al 5% para cada tratamiento estudiado. (InfoStat 2008)

Tabla 2 Análisis de la composición físico química del compost a los 30 y 60 días

Días a la siembra	A ₁ D ₁ [*]	A ₁ D ₂ [*]	A ₁ D ₃ [*]	A ₂ D ₁ [*]	A ₂ D ₂ [*]	A ₂ D ₃ [*]
15	11.42 ^{ab}	11.71 ^{ab}	15.02 ^a	9.8 ^b	10.64 ^b	11.68 ^{ab}
30	30.85 ^{bc}	32.3 ^{ab}	35.88 ^a	27.8 ^{cd}	26.73 ^d	29.53 ^{bcd}
60	48.68 ^{ab}	48.71 ^{ab}	53.22 ^a	42.77 ^b	40.83 ^b	46.7 ^{ab}
90	62.04 ^{ab}	63.15 ^{ab}	66.12 ^a	57.97 ^b	59.08 ^b	60.51 ^b

^{*}A1 (Azolla seca); A2 (Azolla fresca); D1 (Dosis 0.5:1); D2 (Dosis 0.75:1); D3 (Dosis 1:1); a-d (P < 0.05%)

Resultados

Con respecto a altura de planta, luego de realizar los respectivos análisis estadísticos, se pudo observar que el tratamiento que mejor respondió fue A₁D₃ (azolla seca + dosis 1:1); a los 15 días se obtuvo un promedio de 15.02 cm de altura, a los 30 días 35,88

cm de altura, a los 60 días se obtuvo un promedio de 53.22 cm de altura y a los 90 días las plantas alcanzaron un promedio de 66.12 cm de altura. Todos estos valores fueron altamente significativos para tratamientos y aplicando la prueba de Tukey al 5%, todos se ubicaron en el rango “a” (Tabla 2)

Tabla 3 Porcentaje de nitrógeno en materia seca de maíz para tratamientos

Días a la siembra	A ₁ D ₁ [*]	A ₁ D ₂ [*]	A ₁ D ₃ [*]	A ₂ D ₁ [*]	A ₂ D ₂ [*]	A ₂ D ₃ [*]
15	0.51 ^b	0.5 ^b	0.54 ^a	0.43 ^c	0.44 ^c	0.49 ^b
30	0.88 ^a	0.87 ^a	0.9 ^a	0.76 ^b	0.74 ^b	0.87 ^a
60	1.65 ^{ab}	1.64 ^{ab}	1.68 ^a	1.46 ^c	1.48 ^c	1.58 ^b
90	1.99 ^b	2.01 ^b	2.08 ^a	1.74 ^d	1.78 ^d	1.91 ^c

^{*}A1 (Azolla seca); A2 (Azolla fresca); D1 (Dosis 0.5:1); D2 (Dosis 0.75:1); D3 (Dosis 1:1); a-d (P < 0.05%)

De igual forma para porcentaje de nitrógeno en materia seca, se pudo observar que el tratamiento A₁D₃ (azolla seca + dosis 1:1) respondió mejor al sustrato de azolla, a los 15 días se obtuvo un 0,54% de nitrógeno, a los 30 días se obtuvo un 0,90% de nitrógeno, a los 60 días se alcanzó un 1,68% de

nitrógeno y a los 90 días se obtuvo un 2.08% de nitrógeno en materia seca de hojas de maíz. Todos estos valores fueron altamente significativos para tratamientos y aplicando la prueba de Tukey al 5%, todos se ubicaron en el rango “a” (Tabla 3)

Discusión

En la variable altura de planta un tratamiento sobresale sobre los demás, es A1D3 (azolla seca + dosis 1:1), con 66.12 cm, como se observa en la Tabla 2. Tomando en cuenta que el maíz fue sembrado en envases rellenas con los sustratos preparados previamente para este ensayo, donde la única fuente de nitrógeno está en la azolla, en tal virtud los resultados registrados demuestran que la azolla influye directamente en el crecimiento del cultivo de maíz, gracias al aporte de nitrógeno que ésta genera. Esto corrobora lo señalado por Mosquera-Lenti & Calderón-Rodríguez (2002), la asociación *Azolla-Anabaena* es literalmente una fábrica viva flotante de compuestos nitrogenados, que usa la energía de la fotosíntesis para fijar el nitrógeno atmosférico. La asociación puede fijar entre 100 a 150 kg de N₂ atmosférico por hectárea/año en aproximadamente 40-60 toneladas de biomasa.

Sobre la base del peso seco la azolla contiene aproximadamente 23.8 % de proteína cruda, 4.4 % de grasa 6.4 % de almidón y 9.5 % de fibra. (Becking 1978).

La Azolla seca (A1) es la que mejores resultados presenta con relación a la altura de planta dentro del ensayo, debido a ésta presenta las condiciones adecuadas para que los cultivos se beneficien de sus nutrientes, específicamente de nitrógeno. (Rodríguez-Suppo 1996). El proceso de molido de la Azolla seca degrada las macromoléculas orgánicas de Azolla y con la acción del agua de riego degrada con mayor facilidad los nutrientes disponibles para el cultivo. (Rios-Vaca 2014)

La dosis que se destaca es D3 (Dosis 1:1) demostrando que la altura de planta es directamente proporcional a la cantidad de Azolla aplicada como abono bionitrificante.

En la variable porcentaje de nitrógeno en materia seca, las diferencias son claras con respecto al tipo de Azolla utilizada; la Azolla seca (A1) presenta resultados significativos a partir de los 60 y 90 días, mientras que a los 15 y 30 días no existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a los demás tratamientos. Esto se debe a que el cultivo de maíz mantiene estables sus niveles de absorción de nitrógeno y otros nutrientes en las primeras etapas de desarrollo por la escasa área foliar, la cual va cambiando conforme el cultivo va desarrollándose y aumentando su área foliar, (National Plant Food Institute 1993). El maíz responde positivamente a la Azolla seca (A1), ya que la materia orgánica y el nitrógeno presentan un mejor contenido con el método de secado bajo cubierta, así como en el tiempo de secado de 21 días, bajo estas condiciones se obtuvo un 41.61 % de materia orgánica y un 2.08 % de nitrógeno total. (Rios-Vaca 2014).

Al principio, la acumulación de materia sólida en la planta del maíz es lenta. Por entonces, el área de la hoja es pequeña. Conforme se va disponiendo de mayor superficie de hojas, va aumentando la proporción de fotosíntesis y de acumulación de materia sólida. Después de que se ha completado el desarrollo de la hoja, la rapidez de acumulación de materia sólida aumenta. En condiciones favorables, es aproximadamente uniforme hasta que la planta está casi madura. La toma de nutrientes como nitrógeno y potasio, sigue un lineamiento similar al de la acumulación de materia sólida. (National Plant Food Institute 1993)

Los vegetales absorben el nitrógeno en sus formas solubles: nitratos, amonios y otros compuestos nitrogenados solubles. La molécula de clorofila (de pigmentación verde) es la determinante del proceso fotosintético, es decir de la producción de material

orgánico a partir del bióxido de carbono del aire. Cuando hay suficiente cantidad de nitrógeno se producen los siguientes efectos: Mayor cantidad de clorofila, mayor asimilación y síntesis de productos orgánicos. De estos puntos se deduce: Mayor “vigor vegetativo” esto se refleja en un aumento de su contenido proteínico. (Rodríguez-Suppo 1996)

Todos los tratamientos mantienen resultados estadísticamente iguales hasta los 30 días de cultivo, pero a partir de los 60 días la curva del tratamiento A1D3 (Azolla seca + Dosis 1:1) va tomando distancia de los demás tratamientos hasta volverse estadísticamente significativo, como se puede observar en la Tabla 3.

En conclusión, el uso de la azolla como un biofertilizante rico en nitrógeno es factible, ya que se ha podido demostrar en esta investigación que la planta de maíz se beneficia del aporte de este material, mejorando las prácticas agrícolas sostenibles. Se recomienda ampliar esta investigación en este mismo cultivo o en otros cultivos de importancia comercial hasta terminar su ciclo productivo, para reportar los resultados obtenidos en estos.

Conflictos de intereses

Esta investigación se la realizó en la Granja Experimental Docente Querochaca de la Universidad Técnica de Ambato y no presenta conflictos de interés.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencias Agropecuarias y a la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), por el apoyo técnico, científico y logístico realizado a la presente investigación.

Literatura citada

- Altieri MA. Bases agroecológicas para una producción agrícola sustentable. Agri Tec. 1994; 54(4):371-86.
- AOAC International: “Official Methods of Analysis”. 17ed. Gaithersburg, USA. 2000.
- Becking JH. Ecology and physiological adaptations of *Anabaena* in the *Azolla-Anabaena* symbiosis. Ecol. Bull. (Stockholm). 1978; 26: 266-81.
- González R, Luisier A, Font Quer P. Historia Natural. Tomo III. Botánica. VI Ed. Instituto Gállach, Barcelona; 1969. p. 138.
- InfoStat. InfoStat, Manual del Usuario. Cordoba: Editorial Brujas. 2008.
- Instituto Geográfico Militar. Atlas del Ecuador. Quito: IGM. 1996.
- Mishra DJ, Singh R, Mishra UK, Shahi-Sudhir K. Role of Bio-Fertilizer in Organic Agriculture: A Review. Res J Recent Sci. 2012; 1(2): 39-41.
- Montaño M. Estudio de la aplicación de *Azolla Anabaena* como bioabono en el cultivo de arroz en el Litoral ecuatoriano. Rev Tecnol. 2005; 18(1): 147-51.
- Mosquera-Lenti, J, Calderón-Rodríguez A. Evaluación de parámetros bioquímicos y morfogenéticos en la simbiosis *Azolla filiculoides* - *Anabaena azollae* como respuesta a la interacción de la calidad de luz y dos niveles de nitrógeno. Ecol Apl. 2002; 1(1): 89-94.
- National Plant Food Institute. Manual de Fertilizantes. Mexico: Limusa Noriega Editores. 1993.
- Rios-Vaca CA. Determinación de los métodos y tiempo de secado de *Azolla (Azolla anabaena)* para obtener un sustrato orgánico en la parroquia Pinguilí cantón Mocha provincia de Tunja.

- gurahua. [Tesis de Maestría]. Ambato: Universidad Técnica de Ambato; 2014. p. 144.
- Rodríguez-Suppo F. Fertilizantes. Nutrición Vegetal. AGT Editor S.A. México, D.F., México. 1996. p. 157.
- Sharma S, Gupta R, Dugar G, Srivastava AK. Impact of Application of Biofertilizers on soil structure and resident microbial community structure and function. *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Probiotics*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2012.
- Wagner GM. (1997). *Azolla*: a review of its biology and utilization *Bot Rev.* 1997; 63 1-23.
-