

Variabilidad intraespecífica de *Azolla filiculoides*, colectadas en la zona centro-occidental de Venezuela

Intra-specific variability in *Azolla filiculoides* collected in the west-center of Venezuela

Y. Espinoza¹ y R. Gutiérrez¹

Resumen

La existencia de *Azolla filiculoides* ha sido reportada en Venezuela; sin embargo, no existen estudios taxonómicos ni agronómicos acerca de esta especie en el país. Con el objetivo de determinar diferencias intraespecíficas entre accesiones de *Azolla filiculoides* colectadas en el Centro-Occidente de Venezuela, se determinaron algunas variables (pH, CE, P, K, Ca, Mg y Fe) del ambiente (suelo y agua) donde se colectaron las muestras de *A. filiculoides*. Además, se determinó la tasa relativa de crecimiento (TRC), la tasa de fijación simbiótica de nitrógeno (TFN) y el tiempo de duplicación de la biomasa (TD). Así como el contenido de nutrimentos (N, P, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Na) en el tejido vegetal, el cual se determinó en las accesiones de *A. filiculoides* creciendo bajo condiciones de invernadero, usando 0.5 g de *Azolla* en solución Hogland. De acuerdo al análisis de componentes principales las variables Cu, Fe, y Zn medidas en el tejido vegetal, la concentración de los elementos Ca y K en el suelo y Ca en el agua proveniente del ambiente donde se colectó la muestra de *A. filiculoides* fueron la que causaron mayor varianza. En base a estas variables y considerando la TFN, la TCP, y el tiempo de duplicación el análisis de cluster de las colectas analizadas reveló 3 grupos de *A. filiculoides* mostrando más de 65 % de similitud entre ellos. Los dos grupos dominantes estuvieron formados por 68% de las muestras colectadas. Estos dos grupos son probablemente más exitosos en áreas de alta fertilidad natural, o donde se use fertilizante fosforados con altos contenidos de potasio. Bajo condiciones de alta fertilidad las colectas N° 28, 29, 31 y 35 se perfilan como las más recomendadas como biofertilizantes nitrogenados para arrozales por su alta tasa de fijación de nitrógeno.

Palabras clave: *Azolla filiculoides*, accesiones, fijación simbiótica de nitrógeno, tasa de crecimiento, tiempo de duplicación, nutrientes.

Recibido el 17-12-2001 ● Aceptado el 7-11-2002

1 Instituto de Investigaciones en Recursos Agroecológicos. INIA. Apartado 4653. Maracay 2101. estado Aragua, Venezuela. E-mail: orihuen@yahoo.com

Abstract

Azolla filiculoides have been reported as native plant in Venezuela, but there is no taxonomic or agronomic information about this species in the country. The objective of this study was to determine the differences among the *Azolla filiculoides* species collected in the west-central area of Venezuela. The variability of the environment where *Azolla* was collected was studied through chemical analysis (pH, CE, P, K, Ca, Mg y Fe) of the soil and water where the samples was found to live. The relative growing rate, nitrogen fixing rate, and the biomass doubling time Also the nutrient content (N, P, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Na) concentrations in the *A. filiculoides* leaf were determined by growing 0.5 g of *Azolla* in Hogland's solution under greenhouse condition. According to principal component analysis the variables Cu, Fe, and Zn determined in the leaf and the concentration of P, Ca and K in soil and Ca in water caused greater variability among the *Azolla* samples. Cluster analysis based on these variables, and including nitrogen fixation rate, double time, and potential growth rate revealed 3 ecotypes of *A. filiculoides* that showed more than 65% similarity. The two dominant groups contained 68% of the samples taken. These two group will be more successful in areas with high natural soil fertility, or where phosphate fertilizers with high potassium rates are used. Under this condition samples # 28, 29, 31 y 35 are recommended as nitrogen bio-fertilizers in rice fields because of their high nitrogen fixation ability.

Key words: *Azolla filiculoides*, accessions, symbiotic nitrogen fixation, growth rate, doubling time, nutrients.

Introducción

Azolla es un helecho acuático que contiene a una cianobacteria, Anabaena *Azollae*, como simbiote en el lóbulo de su hoja dorsal, la cual es capaz de fijar nitrógeno atmosférico; por esta razón *Azolla* puede crecer en medio libre de nitrógeno y producir una biomasa rica en este elemento (13). Esta propiedad ha provocado que la simbiosis *Azolla*-Anabaena se perfilara en el mundo como un biofertilizante y suplemento proteico para la alimentación animal (15).

El género *Azolla* fue establecido por Lamarck en 1783 en Moore (8), y fue inicialmente incluido dentro de la familia Salviniaceae Sadeb., pero

recientemente los taxónomos la han asignado a la familia monotípica *Azollaceae* Chr. (21).

El género esta dividido en 2 secciones (subgéneros) y 6 especies, sobre la base de sus órganos reproductivos (8). Las secciones son *EuAzolla* y *Rhizosperma*. Las especies que pertenecen a *EuAzolla* son *A. filiculoides* Lamarck, *A. caroliniana* Willd., *A. microphylla* Kaulfuss y *A. mexicana* Presl., y las pertenecientes a *Rhizosperma* son *A. pinnata* Brown, y *A. nilotica* DeCaisne.

Azolla filiculoides Lam., esta ampliamente distribuida en el mundo, ha sido reportada en toda América,

Hawai, Australia, Nueva Zelanda, Inglaterra, Alemania y Checoslovaquia (8). En Venezuela, de acuerdo a muestras (exsiccata) depositada en el Herbario Nacional de Venezuela (VEN), se ha reportado su existencia en Mucuchies, Estado Mérida por Pittier, nr. 12917, VEN 20355, Vareski y Pannier, nr. 1213a, VEN 32783; en Estado Tachira por Francisco Delacio y Helena de Delasio nr. 5023, VEN 135375; en el Estado Falcón por Melgueiro y Ballesteros nr. MB231, VEN 321286.

Para el estudio de las diferentes accesiones de *Azolla filiculoides* se consideraron solo aquellas muestras que fueron capaces de esporular en condiciones de umbráculo, ya que desde el punto de vista agronómico, es importante utilizar material vegetal que sea capaz de formar esporas. Según Quebral (12) los paquetes de esporas de *Azolla* pueden ser usados como ma-

terial de siembra, además de facilitar la diseminación de la planta.

Payawal y De Macale (10) han descrito la importancia de conocer las diferencias entre las accesiones de la especie de *Azolla filiculoides*. De acuerdo a estos autores las condiciones donde se desarrolla la especie puede limitar su capacidad de ser usado como biofertilizante, ya que puede afectar su capacidad de producir biomasa y su fijación biológica de nitrógeno.

El objetivo del presente trabajo fue determinar diferencias intra-específicas entre las especies de *Azolla filiculoides* colectadas en Venezuela, considerando características tanto de la planta así como del suelo y el agua de donde fueron colectadas las muestras de *A. filiculoides*, así como tasa relativa de crecimiento, tasa de fijación simbiótica de nitrógeno y el tiempo de duplicación de la biomasa.

Materiales y métodos

Colecta del material vegetal.

Durante el año 1992, se realizaron 5 misiones de muestreo de la asociación *Azolla*-anabaena en Venezuela. Los lugares muestreados correspondieron a lagunas, préstamos, canales de drenaje, y agroecosistemas, cuya lámina de agua osciló entre 15-90 cm de profundidad. Se colectaron 16 muestras de *A. filiculoides* dos en el estado Guárico, tres en Cojedes, una en Barinas, ocho en Portuguesa y dos en Apure. En cada uno de los sitios se tomaron muestras de suelo y agua. Las muestras de suelo fueron secadas al aire, para posterior determinación de pH, conductividad eléctrica (CE),

materia orgánica por combustión húmeda, el P y el K fue extraído por el método de Olsen (9), y posteriormente se determinó el P por colorimetría utilizando el método fosfovandatomolibdato (2). El Ca, Mg, K, Fe, Cu se determinaron utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 3100 (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, Connecticut), en el caso de Ca y Mg se usó lantano en HCl al 1%. Las muestras de agua al igual que las de suelo fueron tomadas en el mismo lugar de muestreo, las cuales se preservaron a temperaturas que oscilaron entre 5-10 °C hasta el momento de la determinación de las

variables mencionadas.

Identificación del material vegetal. Para la identificación del material vegetal colectado (figura 1a) se consideraron características taxonómicas y morfológicas generales como planta algo alargada y las ramas en forma de pino, presencia de papila sobre todas las partes del cuerpo de la planta especialmente el tallo principal (20). Además, se consideró las características del órgano reproductivo masculino (microesporocarpo), el número de esporangios por microesporocarpo (40 a 65), el número de másulas por esporangio (3 a 8), presencia de menos de tres sectas sobre gloquidio en las másulas (figura 1b) y textura "punteada" (parecida a una bola de golf) del órgano reproductivo femenino (megaesporoderma) (figura 1c), como criterios de identificación de la especie *A. filiculoides* (20).

Tasa relativa de crecimiento, Tasa de fijación de nitrógeno y Tiempo de duplicación de biomasa. Para la determinación de la tasa relativa de crecimiento (TRC) y tiempo de duplicación de la biomasa (TD), se sembraron 0,5 g de *Azolla* fresca en recipientes plásticos (95 cm² de superficie y 7 cm de profundidad) conteniendo 250 mL de solución nutritiva de Hogland modificado (sin nitrógeno), y se colocaron en el invernadero. La cosecha se realizó cuando las plantas cubrieron el 100% de la superficie del recipiente. Los tratamientos fueron arreglados en un diseño completamente aleatorio con tres replicaciones. El medio sin nitrógeno fue renovado a los 3 y 6 días de haber comenzado el ensayo, a partir de los 9 días y hasta la cosecha se

agregaron 150 mL de solución nutritiva cada 3 días. El incremento del peso fresco de la biomasa fue tomado igualmente cada 3 días, para lo cual se utilizó una malla plástica para el filtrado del material. Luego de la pesada el material fresco era devuelto a los potes originales. Quince días después de la siembra, las frondas de *Azolla* fueron colectadas, lavadas con agua de chorro y luego con agua deionizada, secadas al aire por media hora. Posteriormente la muestra fue secada en un estufa a 90°C hasta alcanzar peso constante y por diferencia de peso se determinó el contenido de humedad de la muestra. La tasa relativa de crecimiento y el tiempo de duplicación fueron calculados usando las siguientes formulas:

Donde, p_1 y p_2 son el peso seco

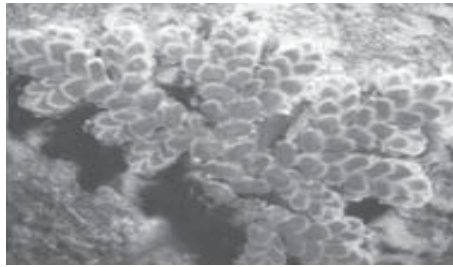
$$1) TCR = \frac{\ln P_2 - \ln P_1}{t}$$

$$2) TD = \frac{\ln 2t}{\ln \left(\frac{P_2}{P_1} \right)}$$

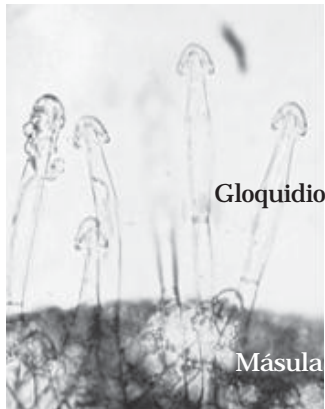
inicial y final, respectivamente, y t es el periodo de observaciones en días (7).

Por otra parte, la tasa de fijación biológica de N (TFB) fue establecida luego de la determinación del N total en la planta, realizado a través del método Kjeldahl (4). La TFN fue calculada usando el % de N total determinado al final de la incubación y el tiempo de incubación (t) en días, cuando las plantas habían cubierto el 100% de la superficie del recipiente.

Análisis mineral del tejido vegetal.



a) *Azolla filiculoides*



b) Gloquidios sobre el órgano masculino



c) Órgano femenino

Figura 1. a) Planta de *Azolla filiculoides*. b) Órgano reproductivo masculino mostrando; los gloquidios con menos de tres septas sobre la máscula del esporangio. c) Órgano reproductor femenino. Textura puntiada del megasporodermo

Para la determinación de N, P, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Na en el tejido vegetal las muestras se hicieron crecer como se indicó anteriormente, pero el crecimiento fue llevado a cabo solo por 15 días. Luego de cosechadas, las muestras de *Azolla* fueron lavadas una vez con agua de chorro y dos veces con agua deionizada, para prevenir cualquier contaminación de los elementos a determinar y posteriormente se secó a 70°C por 3 días. El nitrógeno total se determinó por el método Kjeldahl (4), utilizando un bloque digestor Tecator 40 modelo 1016 y un destilador automático Tecator 1002, (Tecator, Hoganas, Suiza), la extracción del resto de los elementos se realizó por digestión seca (2). Para la determinación del P se utilizó el método colorimétrico fosfovanadatomolibdato (2). El Ca, Mg, K, Mn, Fe, Cu, Zn, Na se determinaron utilizando espectrofotometría de absorción atómica, en el caso de Ca y Mg se usó lantano en HCl al 1%. Los resultados fueron reportados en base a peso seco. El diseño fue completamente aleatorio con tres

repeticiones por tratamiento.

Análisis de datos. Los datos fueron analizados con procedimientos provistos por el Sistema de análisis estadísticos (SAS) (17). Proc Glim fue usado como un procedimiento para el análisis de varianza y separación de medias. Todos los resultados fueron considerados significativamente diferentes a $P < 0,05$, al menos que se indique lo contrario.

Por otra parte, tanto los resultados obtenidos en los ensayos, así como la caracterización ecológica del lugar donde fue colectada cada accesión fueron tratados por medio de un análisis de factores principales y un análisis de clasificación (clusters). Los clusters fueron agrupados por el método de distancia promedio. El algoritmo de distancias promedio aplicado a las distancias Euclidianas entre las 16 colectas de *A. filiculoides* estudiados, permitió la elaboración del dendograma el cual agrupa a las accesiones de acuerdo a su similitud. Las accesiones, dentro de un grupo con 65% de similitud, fueron definidas como posibles ecotipos.

Resultados y discusión

Las características de las muestras de suelo y agua de las localidades donde se realizaron las colectas se muestran en el cuadro 1. En éste se observa que la especie *Azolla* se desarrolla en suelos y aguas muy uniformes en cuanto a pH, los suelos con tendencia a la neutralidad y las aguas hacia la alcalinidad. El resto de las características químicas presentan altos coeficientes de variación, lo que

manifiesta la amplia gama de ambientes donde *Azolla filiculoides* es capaz de desarrollarse, lo cual coincide con lo señalado por San Valentín *et al.* (16).

En general, todas las accesiones de *A. filiculoides* utilizadas en el experimento presentaron un crecimiento satisfactorio en el medio de cultivo utilizado. El cuadro 2 presenta los rangos de concentración

Cuadro 1. Rango y coeficiente de variación (CV) de algunas características de los suelos y aguas de la región centro-occidental de Venezuela donde se colectó *Azolla filiculoides*

Característica	Suelo		Agua	
	Rango	***CV (%)	Rango	CV (%)
pH	5,2-7,4	12,6	7,4-8,6	4,1
*C.E. (mS/m)	0,03-0,4	88,7	0,14-11,9	86,2
**M.O (g/Kg)	1,9-46,8	55,7	-	-
P (ppm)	5,0-53,0	17,0	0,0-0,6	218,6
k(ppm)	24-272	65,2	1,27-6,5	44,0
Ca (ppm)	115-1395	50,2	11,6-286	107,5
Mg (ppm)	-	-	2,3-36-3	71,5
Fe (ppm)	-	-	1,53-11,9	176,9

* Conductividad eléctrica

** Materia orgánica.

***: Coeficiente de variación

de elementos en el tejido vegetal de las 16 accesiones de *A. filiculoides*. Estos valores están en el rango reportado por Querubín *et al.* (11). La concentración de N está dentro del rango (4-6%)

señalado por Kumarasinghe *et al.* (5), quienes trabajaron en condiciones similares a las señaladas en el presente ensayo. Existe una baja variabilidad (CV=12,3) en esta variable para las 16

Cuadro 2. Rango de variación de las características del tejido vegetal de las muestras de *Azolla filiculoides* crecidas en condiciones de invernadero

Características	Rango de variación
N (%)	4,06-5,80*
P (ppm)	0,36-0,73
k (ppm)	6-7
Na (ppm)	0,02-0,04
Ca (ppm)	0,22-1,00
Mg (ppm)	0,13-0,18
Cu (ppm)	22-26
Fe (ppm)	81-134
Zn (ppm)	62-101
Mn (ppm)	22-27

*CV= 12.3

accesiones, lo que sugiere una similitud en la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico. Sin embargo, la Tasa de Fijación de Nitrógeno de las accesiones de *A. filiculoides* analizadas mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) (cuadro 3).

La accesión N° 29 proveniente de Guanare, estado Portuguesa mostró la más alta TFN ($13,78 \text{ mg N g}^{-1} \text{ día}^{-1}$), y la accesión N° 42 proveniente de Sabaneta, estado Barinas mostró la TFN más baja ($10,32 \text{ mg N g}^{-1} \text{ día}^{-1}$). Contrariamente, la accesión N° 42

mostró la TRC más alta y el TD más bajo (cuadro 3). Estos resultados sugieren que esta accesión de *A. filiculoides* es altamente eficiente en la producción de biomasa en corto tiempo requiriendo una baja cantidad de nitrógeno. De acuerdo a Quintero y Ferrara-Cerrato (14); Singh *et al.* (18), las características observadas en la accesión N° 42, la perfilan como una fuente importante de materia orgánica para el suelo debido a su rápida multiplicación, utilizando nitrógeno atmosférico como fuente de N. El resto

Cuadro 3. Tasa de fijación simbiótica de nitrógeno (TFN), tasa relativa de crecimiento (TRC) y tiempo de duplicación (TD) de *Azolla filiculoides* Lam., colectadas en la región centro-occidental de Venezuela.

N° de colecta ¹	TFN (mg N/g/día)	TRC (g/g/día)	TD (días)
13	10,8 ^{df 2}	0,21 ^b	3,25 ^{fg}
20	10,5 ^{fg}	0,17 ^{ef}	4,18 ^{bcd}
25	11,1 ^{de}	0,16 ^{ef}	4,23 ^{bcd}
28	12,4 ^b	0,21 ^b	3,25 ^{fg}
29	13,8 ^a	0,20 ^{bc}	3,37 ^{fg}
31	12,4 ^b	0,19 ^{cd}	3,56 ^{ef}
32	11,8 ^c	0,15 ^{ef}	4,49 ^{abc}
34	ND ³	0,20 ^{bc}	3,41 ^f
35	12,8 ^b	0,19 ^{cd}	3,53 ^{ef}
37	11,7 ^c	0,14 ^f	4,85 ^a
39	ND	0,16 ^{ef}	4,38 ^{bc}
40	11,3 ^d	0,16 ^{ef}	4,32 ^{bcd}
42	10,2 ^g	0,24 ^a	2,90 ^g
46	11,3 ^d	0,16 ^{ef}	4,29 ^{bcd}
48	11,3 ^d	0,15 ^{ef}	4,54 ^{ab}
49	ND	0,17 ^{ef}	4,08 ^{cd}

¹ El número de colecta corresponde al orden de entrada de cada muestra al banco de germoplasma.

² Valores con distintas letras dentro de la misma columna son diferentes estadísticamente ($P < 0,05$).

³ ND = no determinado.

de las accesiones no mostraron una clara tendencia, en relación a la TFN y la TRC o el tiempo de duplicación de la biomasa.

El cuadro 4 muestra una clasificación de potencialidad de las accesiones de *A. filiculides* en cuanto a la tasa de fijación de nitrógeno, la tasa de crecimiento y el tiempo de duplicación de la biomasa. Esta clasificación se basó en las diferencias significativas ($P < 0,05$) encontradas entre las muestras evaluadas. El 80% de las colectas fueron ubicadas en los niveles de medio y bajo con respecto a la TFN, la TRC y el tiempo de duplicación de la biomasa. La TRC varió entre $0,24 - 0,14 \text{ g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$, ajustándose estos valores a los señalados por Quintero y Ferrara-Cerrato (14), en evaluaciones realizadas con colectas de *Azolla filiculoides* pertenecientes al *Azollatum* del CEDAF-C. P., México y a valores reportados por Fiore y Gutbrod (3), en ensayos realizados en condiciones de invernadero utilizando *Azolla filiculoides* colectadas en Brasil. Los valores del tiempo de duplicación del 80% de las muestras estudiadas

fueron similares a aquellos reportados por Kumarasinghe (6); Becking, (1); Subudhi y Watanabe (19) para *Azolla* creciendo en medio artificial. Los resultados de TFN sugieren que las accesiones 28, 29, 31 y 35 colectadas en el estado Portuguesa es el material con mayor potencial como biofertilizantes por su alta Tasa de Fijación de Nitrógeno ($>13,8 \text{ mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$) (15).

De acuerdo al análisis de los componentes principales las variables Cu, Fe y Zn medidas en el tejido vegetal y la concentración de los elementos P, Ca y K en el suelo y Ca en el agua provenientes de los ambientes donde se colectaron las accesiones de *A. filiculoides* fueron los que causaron mayor varianza. Con base a estas variables y considerando la TFN, la TRC, y el tiempo de duplicación de las accesiones estudiadas, se realizó una clasificación de las accesiones a través del análisis de cluster. El análisis de Cluster de las colectas analizadas reveló 3 ecotipos de *A. filiculoides* mostrando más de 65 % de similitud (figura 2).

La distribución de las accesiones entre los posibles ecotipos es mostrada

Cuadro 4. Rangos de la tasa de fijación de nitrógeno (TFN), la tasa relativa de crecimiento (TRC) y el tiempo de duplicación (TD) utilizados para clasificar las accesiones de *Azolla filiculoides*

Nivel	TFN ($\text{mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	TRC ($\text{g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	TD (días)
Alto	>13,8	>0,23	>4,8
Medio	13,7-11,7	0,23-0,17	4,7-3,6
Bajo	11,6-10,3	0,16-0,13	3,5-3,6
Muy bajo	<10,1	<0,14	<2,8

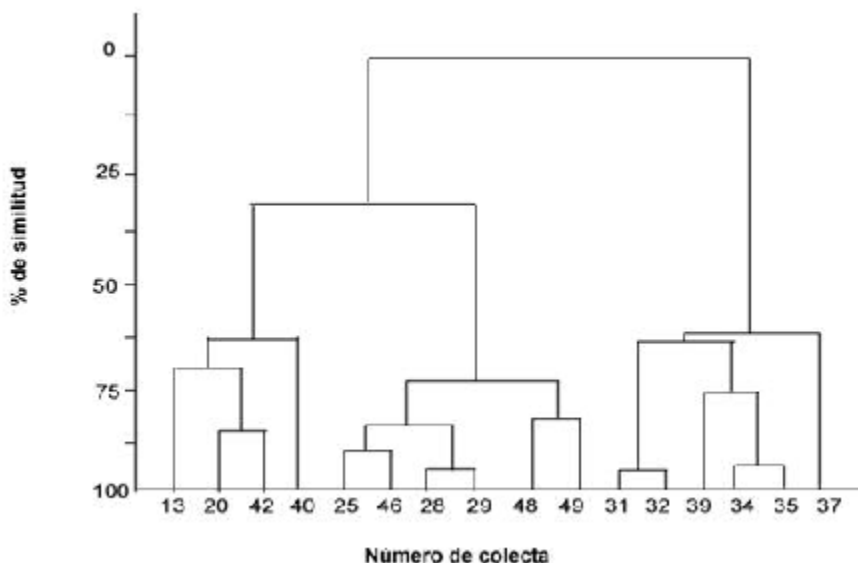


Figura 2. Análisis de cluster de 16 muestras de *Azolla filiculoides* Lam., colectadas en la región centro-occidental de Venezuela. Los ecotipos son definidos teniendo 65% de similitud

en el cuadro 5. Dos grupos mostrando 6 accesiones cada uno y 75% de las colectas fueron clasificadas dentro de uno u otro de estos grupos. El posible ecotipo II incluyó 38% de las accesiones (6 colectas), de las cuales 50% provenían del estado Cojedes. El posible ecotipo III incluyó 38% de las accesiones totales, 100% de estas colectas eran procedentes del estado Portuguesa. El otro posible ecotipo agrupó 25% de las accesiones, conteniendo 4 colectas.

Las muestras pertenecientes a los dos posibles ecotipos dominantes (ecotipo II y III) están principalmente caracterizadas por alto contenido de P, K y Ca en el suelo del ambiente donde se colectó la muestra de *Azolla filiculoides*. Este resultado se corresponde con lo esperado, debido a la riqueza de Ca y K del material pa-

rental del cual se originaron estos suelos. Estos dos grupos son probablemente más exitosos en áreas de alta fertilidad natural del suelo, o donde se use fertilizante fosforados con altos contenidos de potasio, pero las accesiones pertenecientes al grupo I, probablemente se desarrollaran más apropiadamente en aquellas áreas donde el P, K y Ca en el suelo sean bajo. En resumen, de acuerdo a nuestros resultados se confirma que las muestras de *Azolla filiculoides* colectadas en la región central y occidental de Venezuela pertenecen a posibles ecotipos adaptados a condiciones específicas del lugar de colecta. Bajo condiciones de alta fertilidad del suelo o con el uso de fertilizantes fosforados y potásicos las colectas N° 28, 29, 31 y 35 provenientes del estado Portuguesa se perfilan como

Cuadro 5. Clasificación por ecotipo de las muestras de *Azolla filiculoides* colectadas en la región centro-occidental de Venezuela.

Ecotipos*		Números de colecta**					
I	Guarico	13	-	-	-	-	-
	Apure	20	-	-	-	-	-
	Barinas	42	-	-	-	-	-
	Portuguesa	470	-	-	-	-	-
II	Apure	25	-	-	-	-	-
	Cojedes	46	48	49	-	-	-
	Portuguesa	28	29	-	-	-	-
III	Portuguesa	31	32	34	35	39	37

*Ecotipo: Clasificados con 65% de similitud.

** Colectas pertenecientes al banco de Germoplasma del CENIAP-INIA

las más recomendadas como biofertilizantes nitrogenados para arrozales de toda la zona centro-occidental de Venezuela, por su alta tasa de fijación de nitrógeno. Por otra parte, si el interés es utilizar el helecho como cobertura en cultivos de arroz

para evitar la pérdida de nitrógeno por volatilización (12), se recomienda el uso de la colecta N° 42 procedente del estado Barinas, para este último caso una alta fertilidad del suelo no es requerida para el crecimiento de esta accesión.

Conclusiones

Los resultados de este estudio muestran que las accesiones de la especie *Azolla filiculoides* encontrada en la zona centro-occidental de Venezuela presenta diferencias intraespecíficas. De acuerdo al análisis de cluster las colectas se conforman en 3 grupos mostrando más de 65% de similitud. El contenido de P, K y Ca del suelo fueron las características más importantes para la clasificación.

Las accesiones de *Azolla filiculoides* N° 28, 29, 31 y 35 provenientes del estado Portuguesa pueden considerarse que tienen un valor potencial como abono verde suplidor de nitrógeno para cultivos de arroz, debido a su alta tasa de fijación de nitrógeno.

La accesión N° 42 procedente del estado Barinas tiene potencial solo como cobertura en cultivos de arroz debido a su alta tasa de crecimiento.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada

por el FONACIT (Proyecto N° S1-2311).

Literatura citada

1. Becking, J. H. 1979. Environment requirement of *Azolla* for use in tropical rice production. En: Nitrogen and Rice. IRRI, Manila. p. 345-373.
2. Cottenie, A., M. Verloo, L. Kiekens, G. Velghe y R. Camerlynck. 1982. Chemical Analysis of plant and soils. Laboratory of analytical and agrochemical State University Ghent, Belgium.
3. Fiore, M. y K. Gutbrod. 1985. Use of *Azollain* Brazil. En: International Workshop of *Azolla* Use. Fuz. Hov. Fujian. China. p. 7.
4. Hans, F., J. A. Sebastianelli y H. Axmann. 1987. Manual de laboratorio. Métodos para el análisis de ^{15}N . FAO/OIEA. Curso interregional de entrenamiento sobre el uso de ^{15}N en ciencias de suelos, nutrición vegetal y biotecnología agrícola. Viena.
5. Kumarasinghe, K. S., F. Zapata, G. Kovacs, D. L. Eskew y S. K. A. Danson. 1986. Evaluation of the availability of *Azolla* and urea-N to rice using ^{15}N . Plant and Soil 90: 293-299.
6. Kumarasinghe, K. S., D. L. Eskew. 1993. Isotopic studies of *Azolla* and nitrogen fertilization of rice Klumer Academic Publishers. p. 145
7. Lales, J.S., R.S. Marte y M.A. Lapitan. 1986. Response of *Azolla* to some herbicides. Phil.Agric. 69:453-458.
8. Moore, A.W. 1969. *Azolla*: biology and agronomic significance. Bot. Rev. 35:17-34.
9. Olsen, S. R. 1953. Inorganic phosphorus in alkaline and calcareous soils. Agronomy 4:89-122.
10. Payawal, P. C. y M. A. De Macale. 1990. Population growth of selected *Azolla* hybrids grown on lahar-contaminated soil. The Phil. Agri. 74. 4:499-501.
11. Querubín, L. J., P. F. Alcantara y A. O. Princesa. 1986. Chemical composition of three *Azolla* species (*A. Caroliniana*, *A. microphylla* and *A. pinnata*) and feeding value of *Azolla* meal (*A. microphylla*) in broiler ration II. Phil. Agric. 69:479-490.
12. Quebral, F. C. 1986. The National *Azolla* action Program. Phil. Agric. 69:449-451.
13. Quintero, L. R. 1995 El sistema simbiótico fijador de nitrógeno *Azolla*-Anabaena. En: Ferrara-Cerrato, R y J. Pérez. 1995. Agromicrobiología elemento útil en la agricultura sostenible. Colegio de Postgraduados. México. p. 127-147.
14. Quintero, L. R. y R. Ferrara-Cerrato. 1992. *Azollatum* "Alfredo Echegaray Alemán". En: J. L. Tovar y R. Quintero (eds). La investigación edafológica en México. Memorias del XXV Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. p 242.
15. Quintero, L. R. y R. Ferrara-Cerrato 2000. *Azolla* helecho fijador de nitrógeno y su potencial en México. En. J.J. Peña Cabriales (ed). La fijación biológica de nitrógeno en América Latina: El aporte de las técnicas isotópicas. Irapuato. México
16. San Valentín, G. O., E. M. Del Castillo y R. G. Bayot. 1986. Effect of soil chemical properties on growth of *Azolla* in flooded soils. Phil. Agric. 69: 521-527.
17. SAS Institute. 2001. Procedures guide. Release 6.12 edition. Cary, NC.
18. Singh, P.K., B.C. Panigrahi y K.B. Satapathy. 1981. Comparative efficiency of *Azolla*, blue-green algae and other organic manures in relation to N and P availability in a flooded rice soil. Plant and Soil 62:35-44.
19. Subudhi, B.P.R. y I. Watanabe. 1979. Minimum level of phosphate in water for growth of *Azolla* determined by continuous flow culture. Curr. Sci. 48:1065-1066.
20. Tan, B. C., P. Payawal, I. Watanabe, N. Lacdan y C. Ramírez. 1986. Modern taxonomy of *Azolla*: A review. Phil. Agric. 69:491-512.
21. Tryon, R.M., y A. F. Tryon. 1982. Ferns and Aliens plants, with special reference to tropical America. Springer-Verlag, New York.